

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina Interna



TESIS DOCTORAL

**Eliminación urinaria y fecal de porfirinas en individuos
normales**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

María Luisa Peña Payero

Madrid, 2015

María Luisa Peña Payero

TP
1982
079



* 5 3 0 9 8 5 8 1 6 8 *

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

x - 53 - 029830 - 5

ELIMINACION URINARIA Y FECAL DE PORFIRINAS EN INDIVIDUOS NORMALES

Departamento de Medicina Interna
Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid
1982



BIBLIOTECA

© M^a Luisa Peña Payero
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1981
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-1889-1982

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
FACULTAD DE MEDICINA

ELIMINACION URINARIA Y

FECAL DE PORFIRINAS EN

INDIVIDUOS NORMALES

Directores: Prof. V. Gilsanz García.
Dr. R. E. de Salamanca.

TESIS DOCTORAL
por

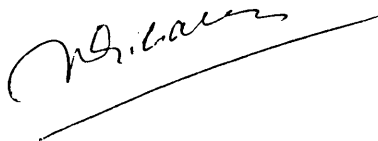
Madrid 1981

Maria Luisa Peña Payero

DON VICENTE GILSANZ GARCIA, CATEDRATICO DE PATOLOGIA Y CLINICA MEDICA, Y DIRECTOR DEL INSTITUTO DE MEDICINA EXPERIMENTAL DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS DE MADRID.

CERTIFICA: Que los trabajos de experimentación que corresponden a la presente Tesis - para optar al grado de Doctor, han sido realizados en los laboratorios del Instituto - de Medicina Experimental y de mi Cátedra bajo mi dirección y la del Dr. Enriquez de Salamanca, por Dña. Ma Luisa Peña Payero durante los tres ultimos años.

Madrid 27 de Mayo de 1981

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'V. Gilsanz', is written over a single horizontal line.

Fdo: Prof. D. Vicente Gilsanz

AGRADECIMIENTOS

La presente Tesis Doctoral, más que el fruto de una investigación personal, representa la labor de todo el equipo de trabajo que en la Cátedra de Patología Médica del Prof. Gilsanz dirige el Dr. Enríquez de Salamanca. Por ello he de exoresar - mi más profundo agradecimiento:

al Prof. D. Vicente Gilsanz que acoge, ayuda y estimula a todos los que a él acuden con auténticos deseos de trabajar e investigar.

al co-director de la Tesis, Dr. D. Rafael Enríquez de Salamanca, que me inició, ayudó, y orientó en la difícil temática del metabolismo porfirínico, tratando de transmitirme su apasionamiento científico.

a los miembros de nuestro grupo de trabajo, doctores, licenciados o estudiantes de medicina, biología, ciencias químicas y farmacia: Antonio Olmos Andrés, Catalina Molina Ferragut, Sagrario Chinarro Familiar, Teresa Catalan Beltran, Vicente Más Andrés y Juan Jose Muñoz Gonzalez, por su constante ayuda y aliento,

al personal médico y auxiliar de la Cátedra del Prof. Gilsanz por su colaboración,

y a D. Antonio Guerrero Fernández Adjunto de estudios de Tráfico de Standard Eléctrica S.A. quien amable y pacientemente realizó la delicada tarea del proceso de datos y su elaboración estadística.

INDICE

	Pág.
I.- INTRODUCCION	
I.1.- Estructura y nomenclatura de las porfirinas	1
I.2.- Biosíntesis del hemo	6
I.3.- Control de la biosíntesis del hemo	21
I.4.- Aspectos cuantitativos de la biosíntesis del hemo	27
I.5.- Fisiopatología de la excreción de las por- firinas	27
I.6.- Cuantía de la excreción porfirínica normal	34
II.- OBJETIVOS	41
III.- MATERIAL	
III.1.- Material humano	42
III.2.- Material instrumental	42
IV.- METODOS	
IV.1.- Métodos cuantitativos de extracción y par- tición solvente	44
IV.2.- Determinación cuantitativa de los precursor <u>o</u> res ALA y PBG mediante cromatografía en co- lumnas por resinas de intercambio ionico	46
IV.3.- Métodos de separación fraccionada	47
IV.4.- Métodos estadísticos	51
V.- RESULTADOS	52
VI.- COMENTARIOS	
VI.1.- Material humano	113
VI.2.- Métodos analíticos	113

VI.3.- Resultados	Pág 123
VII.- CONCLUSIONES	162
VIII.- BIBLIOGRAFIA	164

1.- INTRODUCCION

1.1.- Estructura y nomenclatura de las porfirinas

Las porfirinas se pueden definir como tetrapirroles cíclicos carentes de metal. Al unirse a los diferentes metales, metaporphirinas, adquieren funciones biológicas.

Las porfirinas son derivados de un núcleo tetrapirrólico - común fundamental, llamado Porfina (Figura 1), que no existe en la naturaleza. La Porfina fué sintetizada en 1937 por Fischer y Orth (84). Esta formada por cuatro anillos pirrólicos fuertemente unidos entre si por puentes metilénicos (α, β, γ y δ) fijados sobre carbonos α . Los anillos pirrólicos se denominan A, B C y D siguiendo a Falk que cambió la inicial nomenclatura de Fischer, que utilizaba números romanos, para evitar confusiones - con los tipos isoméricos. Existen ocho posiciones β (numeradas en arábigos), que pueden ser sustituidas.

La IUPAC ("The International Union of Pure and Applied - Chemists") ha pretendido establecer una nomenclatura diferente (110) pero aún no ha sido plenamente aceptada por la mayoría de - los porfirinólogos que prefieren seguir empleando la anteriormente referida que fué la propuesta por Fischer (84)-(82) (83).

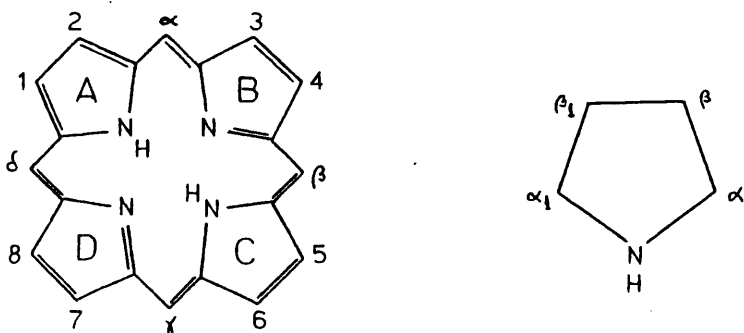


FIGURA 1: Nomenclatura de las porfirinas según Fischer.

Las porfirinas pueden existir en dos estados diferentes de oxidación. En forma reducida o porfirinógenos cuyos dobles enlaces no están conjugados (Figura 2), y en forma oxidada o porfirinas, compuestos con dobles enlaces conjugados (Figura 2). Es el sistema de dobles enlaces conjugados (resonancia) el responsable de la coloración y estabilidad estructural de estas moléculas (22C). En la cadena biosintética del hemo los intermediarios biológicos se encuentran en estado reducido.

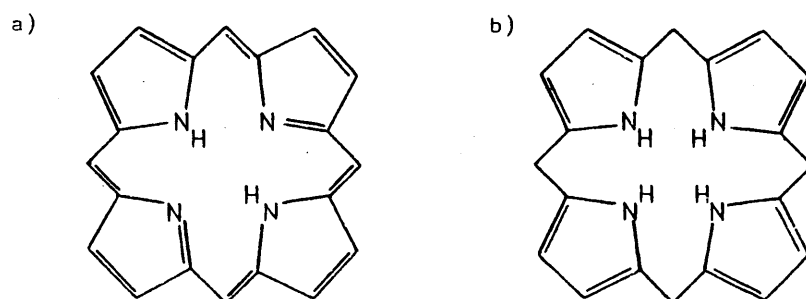


FIGURA 2: Estados de oxidación de las porfirinas. a) Porphirina. b) Porphirínógeno.

Las porfirinas se designan y clasifican basándose en sus cadenas laterales sustituyentes, por ejemplo: etioporfirinas, mesoporfirinas, coproporfirinas y protoporfirinas. La uroporfirina (Figura 3), etioporfirinas, posee cuatro radicales acéticos y cuatro propiónicos; la coproporfirina (Figura 4) tiene cuatro radicales metilos y cuatro propiónicos; y la protoporfirina (Figura 5) presenta cuatro radicales vinilos, dos propiónicos y cuatro metilos. Según la ordenación secuencial, en los carbonos β de la Porfina, de los radicales de sustitución, el número de i

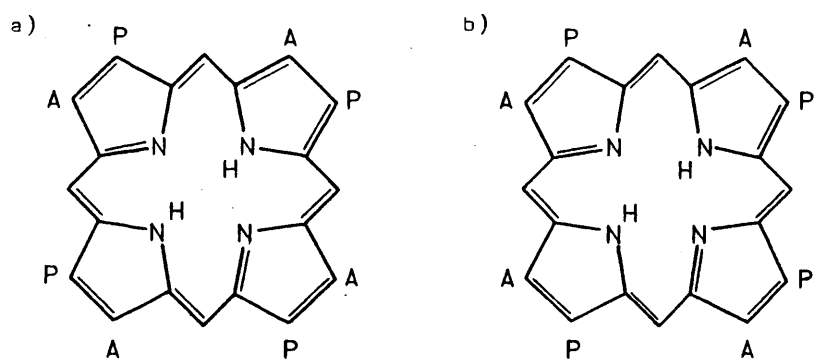


FIGURA 3: a) Uroporphirina I. b) Uroporphirina III.

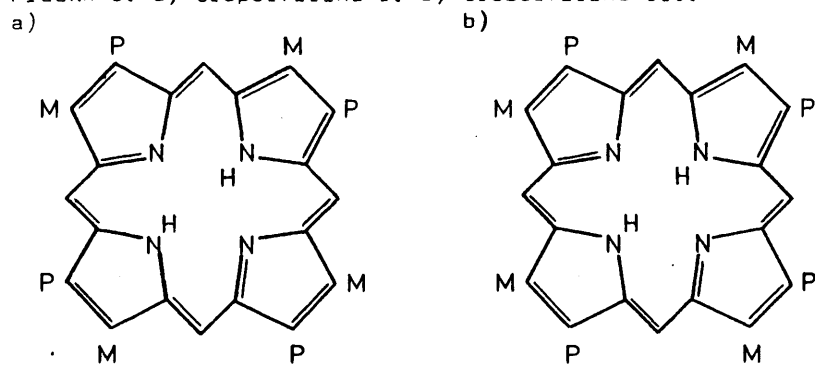


FIGURA 4: a) Coproporphirina I. b) Coproporphirina III.

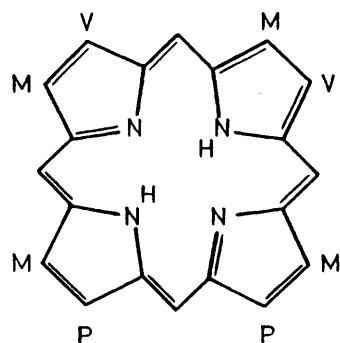


FIGURA 5: Protoporphirina IX

sómeros posibles depende de la cantidad de sustituyentes diferentes presentes. Así, la uroporfirina y la coproporfirina al poseer dos tipos diferentes de sustituyentes tienen una posibilidad teórica de cuatro isómeros. En las excretas y tejidos humanos solo se han encontrado los tipos isoméricos I y III, y de estos sólo la línea isomérica III es precursora del hemo. La protoporfirina contiene tres clases distintas de grupos sustituyentes, por lo tanto la posibilidad teórica de isómeros es de quince. Es la protoporfirina IX, derivada de la serie isomérica III, la que se encuentra presente en la hemoglobina, mioglobina y en la mayor parte de los citocromos.

En la Tabla I podemos ver algunas características de las porfirinas humanas.

Abreviaturas utilizadas:

- A = $\text{CH}_2 - \text{COOH}$
- VA = $\text{CH} - \text{CH} - \text{COOH}$
- E = $\text{CH}_2 - \text{CH}_3$
- M = CH_3
- P = $\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$
- V = $\text{CH} = \text{CH}_2$
- HE = $\text{CHOH} - \text{CH}_3$

TABLA I

NOMBRES, SUSTITUYENTES, PESOS MOLECULARES DE LAS PORFIRINAS LIBRES (pl) y METIL ESTERES (me) y BANDA MAXIMA DE Soret DE LOS METIL ESTERES DE LAS PORFIRINAS.

	3-sustituyentes en posiciones 1 a 8								pl	me	Soret
	1	2	3	4	5	6	7	8			
URO I	A	P	A	P	A	P	A	P			
URO III	A	P	A	P	A	P	P	A	830,7	942,9	406
PENTA III	M	P	A	P	M	P	P	M	697,8	767,9	401,5
COPRO I	M	P	M	P	M	P	M	P			
COPRO III	M	P	M	P	M	P	P	M	654,7	710,8	399,5
ISOCOPRO III	M	E	A	P	M	P	P	M	654,7	710,8	401,5
DEHYDROISOCOPRO III	M	V	A	P	M	P	P	M	652,7	708,8	405
DE-ETIL-ISOCOPRO III	M	H	A	P	M	P	P	M	626,6	682,7	403
HIDROXI-ISOCOPRO III	M	HE	A	P	M	P	P	M	670,7	726,8	403
HARDERO 9	M	V	M	P	M	P	P	M	608,7	650,8	404
PROTO 9	M	V	M	V	M	P	P	M	562,7	590,8	407,5
HEMATO 9	M	HE	M	HE	M	P	P	M	598,7	626,8	399,5
DEUTERO 9	M	H	M	H	M	P	P	M	508,7	536,8	399
MESO 9	M	E	M	E	M	P	P	M	564,6	592,7	400
PORFIRINA S411	M	VA	M	P	M	P	P	M	652,7	708,8	411

U_n

I.2.- Biosíntesis del hemo

- Generalidades:

El hemo, metaloporfirina que posee hierro, constituye el grupo prostético de:

- a) hemoglobina, hemoproteína encargada del transporte del oxígeno molecular.
- b) citocromos mitocondriales, que transportan electrones.
- c) peroxidasas, activando el peróxido de hidrógeno.
- d) catalasas, que descomponen el peróxido de hidrógeno.
- e) citocromo oxidasa, triptófano oxigenasa y diversas oxidasas microsómicas, activando el oxígeno.

Estas funciones del hemo dependen de tres variables; estado de oxidación del hierro quelatado, naturaleza de las cadenas laterales de los tetrapirroles y estructura de la proteína a la que se une.

Se cree que el hemo, también, está involucrado en la síntesis de las proteínas a nivel de la traducción. En preparados de reticulocitos lisados, se ha observado que la síntesis de proteínas cesa en ausencia de hemo, ya que parece ser que en estas circunstancias se forma un inhibidor de la traducción (ID1), interfiriendo el inicio de la síntesis polipeptídica (113). La síntesis de proteínas aumenta al añadir hemina, derivado oxidativo del hemo, en la preparación de reticulocitos lisados.

El anillo porfirínico se halla presente no solamente en diversas hemoenzimas y hemoproteínas, sino también en las clorofilas (porfirinas ligadas al magnesio) y en las cobalaminas (porfirinas ligadas al cobalto).

- Formación del Acido Delta-aminolevulínico (Figura 6):

La biosíntesis del hemo se produce a partir de Glicina y Acido Succínico activado por el Coenzima A (CoA).

La Glicina y el Succinil CoA se combinan en el interior de la mitocondria para formar el Acido Delta-aminolevulínico - (ALA). Esta primera etapa de la biosíntesis del hemo es catalizada por la ALAsintetasa (ALA-S) y probablemente se produce un compuesto intermedio, de vida media corta, el Acido Alfa-amino beta-cetoadípico (126) el cual se transforma en ALA por descarboxilación espontanea. Esta primera etapa es la única que requiere energía, lo que sugiere que la ALA-S es un importante regulador del proceso (92).

El ALA, descubierto por Shemin y Russel (214), es una aminocetona y constituye el primer compuesto estable formado en la ruta biosintética.

Varios son los autores que han estudiado el lugar exacto de la síntesis de la ALA-S. Kikuchi y cols. (106) han detectado esta enzima en el citoplasma y en la mitocondria. Parece ser que se produce en el citoplasma y es transportada posteriormente a la mitocondria. Este supuesto es apoyado por los experimentos realizados por Hayashi y cols. (105), que observaron que el cloranfenicol, inhibidor de la síntesis mitocondrial de proteínas, no bloquea la inducción de ALA-S. Es probable, que para el transporte de la enzima al citoplasma, esta deba unirse a proteínas extramitocondriales (129)(244).

La ALA-S, de vida media corta, es la primera enzima de la ruta y probablemente es la enzima limitante de la velocidad de la biosíntesis del hemo. Así mismo su "turnover" es muy rápido lo que, según Schrike (201) apoya la anterior tesis sobre su papel regulador. La enzima requiere como cofactor el piridoxal -

fosfato (148)(203). Presenta especificidad absoluta para la Glicina como sustrato y en cambio no es específica para el Succinil CoA.

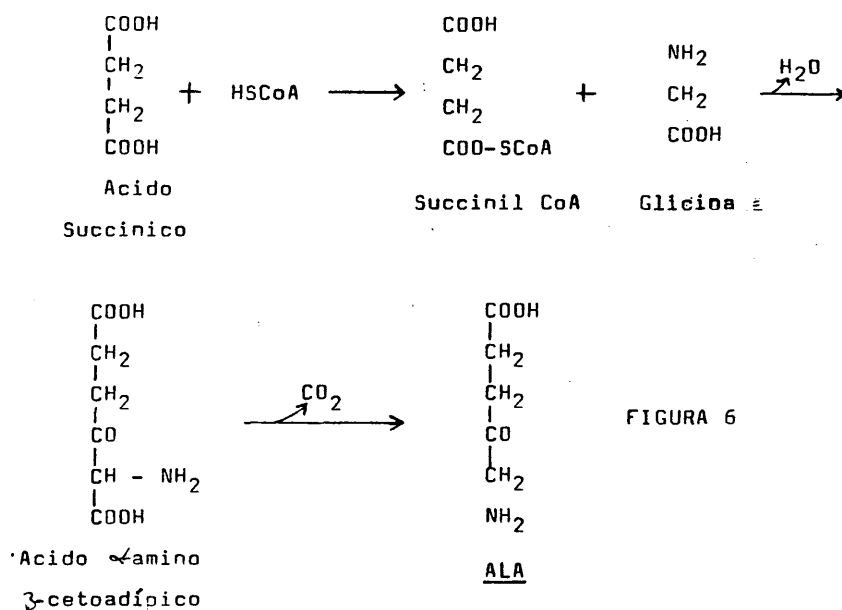


FIGURA 6

El mecanismo de acción de la ALA-S es discutido. Según Scholnick y cols. (202) es esencial la presencia de un grupo sulfidrilo en el centro activo de la enzima para iniciarse la reacción. Este grupo sulfidrilo reacciona con el Piridoxal - fosfato y se produce un tiohemiacetal, formando entonces la Glicina una base de Schiff con este hemiacetal. A continuación se produce una reacción de condensación con el Succinil CoA y se elimina CO₂ procedente del grupo sulfidrilo de la Glicina. Jordan y Shemin (126) proponen otro mecanismo, según el cual el

piridoxal fosfato forma una base de Schiff con un grupo NH_2 - reactivo de la ALA-S. Entonces interviene la Glicina y se forma el complejo enzima-piridoxal fosfato-glicina. A continuación se pierde un protón originándose un carbanión que se condensa con el succinil CoA formando el ácido alfa-amino-beta-cetoadípico, cuya descarboxilación es espontánea o catalizada - por la ALA-S, originándose el complejo enzima-piridoxal fosfato-ALA. El ALA es finalmente liberado por hidrólisis.

- Formación del Porfobilinógeno (Figura 7):

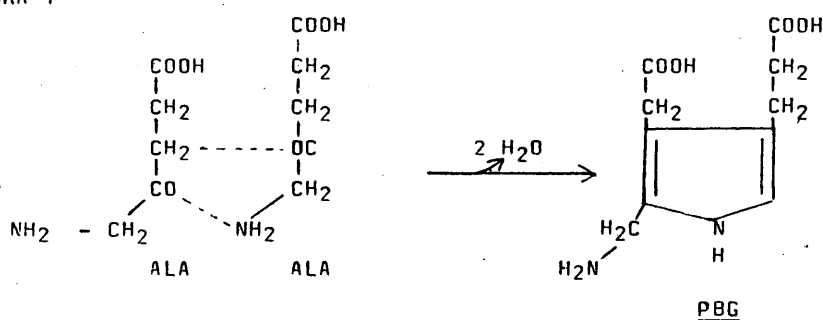
La formación del Porfobilinógeno (PBG) se realiza por condensación de dos moléculas de ALA con liberación de dos moléculas de agua. Esta reacción es catalizada por la enzima mitocondrial ALA-Deshidratasa (ALA-D).

El monopirrol PBG fue aislado por Westall en la orina de un paciente con Porfiria Aguda (241). Su estructura fue establecida por Cookson y Rimington (33) que también realizaron una - de las primeras síntesis del monopirrol, probando así dicha estructura (185).

La ALA-D se ha aislado de eritrocitos de aves (96) (200), reticulocitos de conejos (97) y en hígado de varios animales (93) (114) (194). La enzima que muestra un elevado grado de especificidad por el ALA como sustrato (170), es termoestable. Su vida media "in vitro" es larga (49) y por esta razón no se cree que sea una enzima reguladora de la porfirinosíntesis en los mamíferos. La actividad de la enzima depende de la presencia de grupos sulfidrilos. Gibson y cols. (93) han demostrado que la ALA-D hepática es inhibida por agentes quelantes (por ejemplo EDTA), sugiriendo que requiere iones metálicos para -

ser activa. Aunque se han enumerado diferentes iones metálicos presentes en la molécula de la enzima purificada, se ha demostrado que contiene de 4 a 6 átomos por mol de enzima de Zn^{2+} - (31) (32). Es probable que este ión sea esencial para la actividad de la enzima (81) (103). La ALA-D es especialmente sensible a la inhibición por iones metálicos, particularmente el Pb^{2+} , porque se unen a sus grupos sulfidrilos alterando su configuración estérica (81). Por ésta razón la medida de la actividad de la ALA-D en hematíes es uno de los mejores y más precoces indicios de intoxicación saturnina. La enzima es inhibida también por la protoporfirina IX (30), aunque no se conoce la significación fisiológica de esta observación.

FIGURA 7



El mecanismo de acción de la formación del PBG fué elucidado por Shemin y Naudi (170). Una cadena lateral de ácido acético de una de las moléculas de ALA forma una base de Schiff - con un grupo amino de la zona activa de la enzima y se libera una molécula de agua. El carbanión ALA-enzima ataca nucleofílicamente al carbono carboxílico de la segunda molécula de ALA. A continuación se produce una condensación aldólica y la eliminación de una molécula de agua. Una posterior transaminación y

ciclación forman el pirrol.

Existe una vía alternativa para el PBG; la oxidación biológica, por la cual se desvía de su función como precursor del hemo. La oxidación es catalizada por la Porfobilinógeno oxigenasa. Enzima presente en plantas, animales y bacterias (87). Se ha demostrado que la inducción de PBG-O disminuye el nivel urinario de PBG en la Porfiria experimental en ratas y aumenta la cantidad excretada de oxoporfobilinógeno (89).

- Formación del Uroporfirinógeno (Figura 8):

Para la síntesis de Uroporfirinógeno III (Urogeno III) se utilizan cuatro moléculas de PBG y se requiere la presencia de la enzima Porfobilinogenasa (PBGasa). La PBGasa es el nombre propuesto por Lookwood y Rimington (153) para una combinación de al menos dos enzimas distintas. Uroporfirinógeno I Sintetasa (Urogeno-S) o deaminasa, proteína termoestable y el Uroporfirinógeno III CoSintetasa (Urogeno-CoS) o isomerasa, proteína termolábil.

La Urogeno-S muestra especificidad por el PBG como sustrato. La Urogeno-CoS según sugerencia de Bogorad (13) tiene como sustrato un polipirrol intermedio producido a partir del PBG por acción de la Urogeno-S. Esta sugerencia fué apoyada más tarde por la demostración de dos intermediarios diferentes (156)(155), un dipirrolmetano y un tetrapirrolmetano aislados en 1970 y 1972 respectivamente por el grupo de Bogorad.

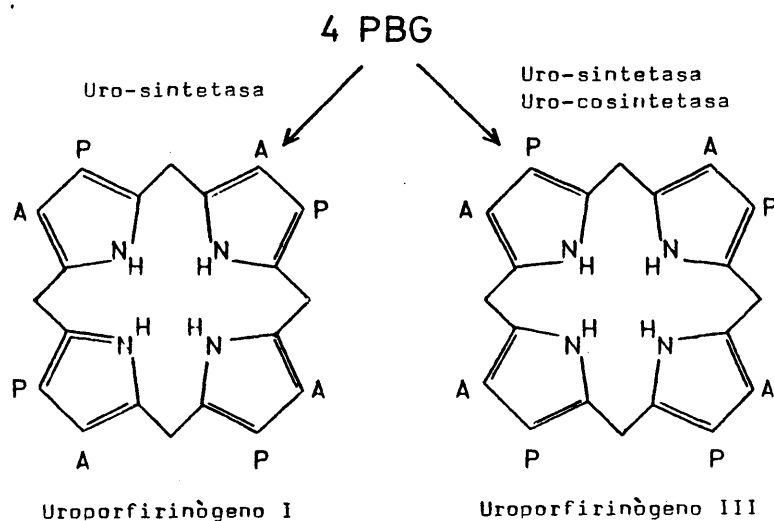
El modo de acción de la Urogeno-CoS es desconocido. Es incapaz por si sola de hacer progresar la ruta biosintética a partir del PBG o de convertir un isómero en otro. Pero como resultado de la acción conjunta de ambas enzimas, deaminasa e i-

somerasa, se produce la inversión de un pirrol por reajuste intramolecular durante la formación del primer dipirrol produciéndose Uroporfirinógeno III.

Por síntesis química se pueden obtener cuatro isómeros del Uroporfirinógeno, pero en la naturaleza sólo se han encontrado el tipo I y el tipo III. De estos sólo el isómero III puede llegar a formar hemo.

La concentración de Urogeno-CoS determina la proporción - Urogeno I/Urogeno III. Si está en exceso sólo se producirá el isómero III. Si esta ausente sólo se forma el isómero I. Si - está en una proporción intermedia con la Urogeno-S se producirá una cantidad similar de ambos isómeros. Por lo tanto el porcentaje de Urogeno III producido es proporcional a la cantidad de isomerasa (I.).

FIGURA 8: Formación de la Uroporfirinógeno I y III.



- Formación del Coproporfirinógeno (Figura 9):

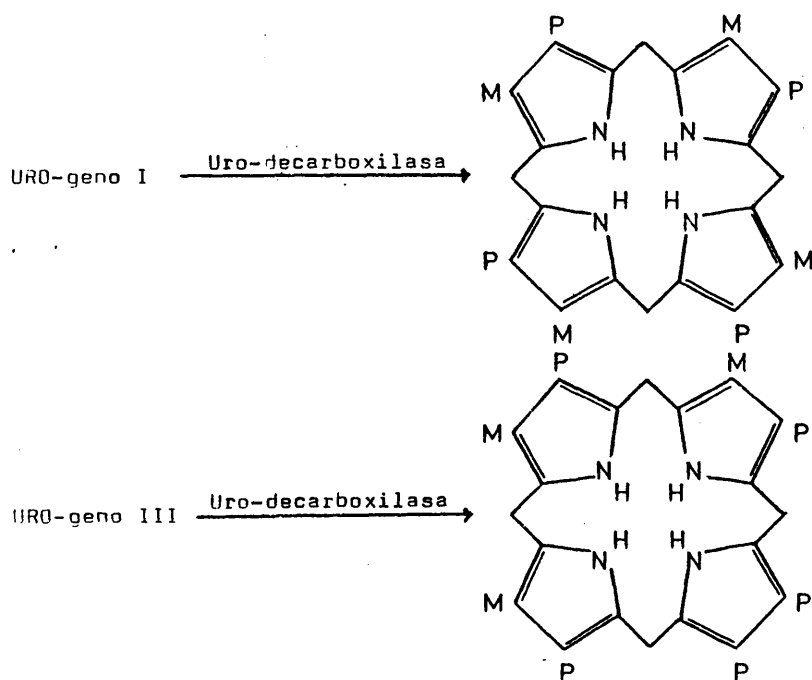
La conversión de Uroporfirinógeno a Coproporfirinógeno (Coprogeno) se realiza en el citoplasma por descarboxilación enzimática de las cuatro cadenas laterales de ácido acético del Urogeno (23). La enzima que cataliza esta reacción es la Uroporfirinógeno Descarboxilasa (Urogeno-D) (23). Este proceso se realiza de forma secuencial y en la dirección de las agujas del reloj (120). Se han encontrado porfirinas con 7, 6, y 5 grupos carboxílicos aunque en condiciones fisiológicas no tienden a acumularse.

La actividad de la Urogeno-D no se afecta por los iones Cu^{2+} , Mg^{2+} y Zn^{2+} , agentes quelantes y bajas concentraciones de Coprogeno III. Es inhibida por Hg^{2+} , Cd^{2+} y Mn^{2+} y por agentes que reaccionan con grupos sulfidrilos. Estas observaciones sugieren que contiene grupos sulfidrilos esenciales para la catalisis y que no es una metaloenzima.

Se ha publicado que la Urogeno-D cataliza la descarboxilación del Uroporfirinógeno III en mayor proporción que su isómero I (32) (161). Sin embargo Romeo y Levin (191), en enzima obtenida de extracto de bazo de ratón, han demostrado que produce ambos isómeros en la misma proporción, similares resultados se han obtenido en enzima de extracto de hígado de cerdo (140) y posteriormente se ha observado la misma tasa de producción de isómeros en hemolizados de eritrocitos humanos (141). Parece ser que cuando el principal sustrato es el Urogeno III se produce acúmulo de Heptacarboxilporfirinógeno, lo que sugiere que la descarboxilación de heptacarboxilporfirinógeno III es más lenta que la del isómero I (91). Esta sugerencia es apoyada por la aparente paradoja en la composición de isómeros presente en hígado y orina de pacientes afectados de Porfiria Cutanea

Tarda (PCT). La PCT es considerada como un defecto congénito en la descarboxilación del Uroporfirinogeno (141). La Uroporfirina acumulada y excretada por estos pacientes es predominantemente de tipo I aunque también existen cantidades significativas de Uroporfirina III. Sin embargo la Heptacarboxil-porfirina eliminada pertenece en su totalidad al isómero III (48).

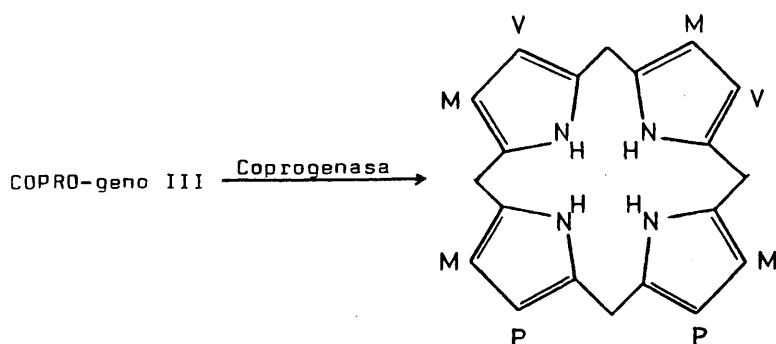
FIGURA 9: Formación de los Coproporfirinógenos I y III.



- Formación del Protoporfirinógeno IX (Figura 10):

El Protoporfirinógeno IX (Protogeno IX) se diferencia del Coproporfirinógeno III por la presencia de dos radicales vinilo en lugar de radicales propiónicos. La conversión de los radicales propiónicos en vinílicos es catalizada por la enzima - mitocondrial Coproporfirinógeno Descarboxilasa Oxidativa o Coprogenasa (Coorogeno-0). Aunque se había postulado la necesidad de oxígeno para esta reacción (194), Tait(230) sugiere que puede haber dos mecanismos diferentes, uno aerobio y otro anaerobio. Esta descarboxilación oxidativa se realiza de forma secuencial., con un producto intermedio, el Harderoporfirinógeno o Porphirinógeno-Tricarboxílico (62), y en la dirección de las agujas del reloj.(117).

FIGURA 10: Formación del Protoporfirinógeno IX.



Sano y Rimington (194) estudian el sustrato específico para la enzima Coprogeno-O encontrando que no descarboxila al Uroporfirinógeno III. La Coproporfirina, sus porfirinógenos, ni al dehidroisocoproporfirinógeno. Porra y Falks (178) han observado que el Coprogeno IV es descarboxilado por la enzima y Frydman y Frydman (88) encuentran que un 52 % de este Coprogeno - se convierte en una Porfirina tricarboxílica y en Protoporfirina. Al Hazini y cols. (2) muestran que el coprogeno IV es - convertido en Protoporfirina XIII, no utilizable para la síntesis final del hemo.

La enzima Coprogeno-O es inhibida por alteración de sus - grupos sulfidrilos y podría tratarse de una metaloenzima.

- Ruta de las Isocoproporfinas (Figura 12):

Elder (54) en 1970 describe dos nuevas Porfirinas tetracarboxílicas, P₁ y P₂ (Figura 11). La denominada P₁ esta formada en realidad por dos porfirinas: isocoproporfirina y desetil isocoproporfirina (54), mientras que la P₂ es un hidrosi-análogo. Existe la posibilidad teórica de que constituyan una ruta alternativa en la cadena biosintética del hemo aunque es poco probable que contribuya de forma significativa al metabolismo normal del hemo (119).

P: CH₂-CH₂-COOH

A: CH₂-COOH

Me: CH₃

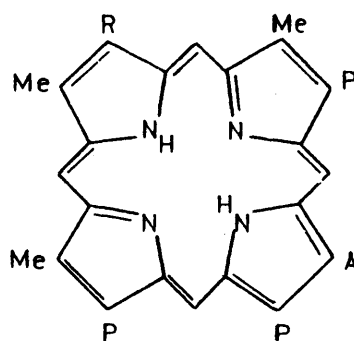
R: Isocopro. Et: CH₂-CH₃

Deidroisocopro. V: CH₂=CH₂

Hidroxiisocopro: CHOH-CH₃

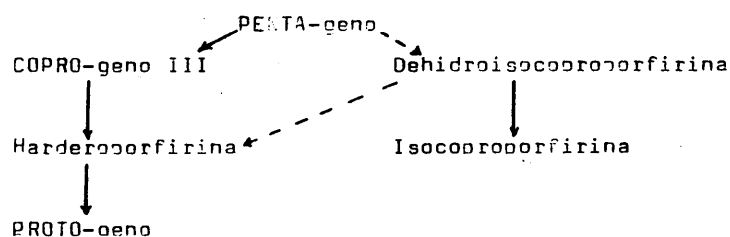
Desetilisocopro: H

FIGURA 11: Estructura de las isocoproporfinas.



Elder (54) comprobó que la enzima Coprogenasa o Coprogeno-O puede catalizar la deshidrogenación y descarboxilación de los radicales propionato del Pentágeno III originando así el dehidroisocoproporfirinógeno. Este porfirinógeno constituye el origen de las diversas porfirinas de la serie Isocopro, pero puede también ser descarboxilado por la Urogeno-O a Harderoporfirinógeno (58). Este último porfirinógeno es descarboxilado y oxidado hasta Protoporfirinógeno por la Coprogenasa reincorporándose así a la ruta biosintética del hemo.

FIGURA 12: Ruta alternativa en la cadena biosintética del Hemo.



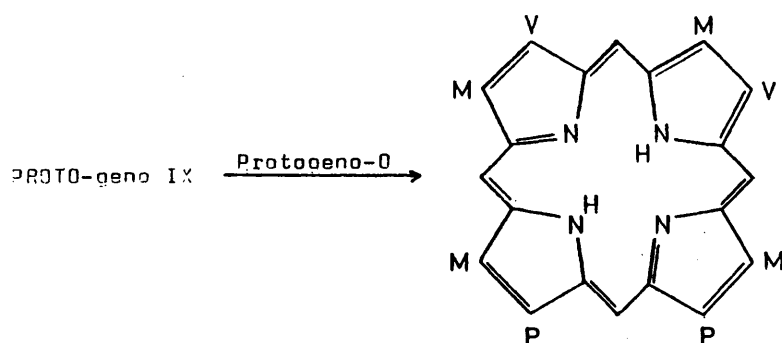
- Formación de Protoporfirina IX (figura 13)

En la penúltima etapa de la ruta biosintética del hemo, el Protogeno IX es oxidado enzimáticamente a Protoporfirina IX por la Protoporfirinógeno oxidasa (Protogeno-O), enzima mitocondrial descubierta recientemente (181) (182).

La Protogeno-O es específica para el Protogen IX y no requiere cofactores. Se ha sugerido que necesita la presencia de oxígeno (180). No se inactiva por agentes quelantes, lo que su-

giere que no se trata de una metaloenzima.

FIGURA 13: Formación de la Protoporfirina IX.

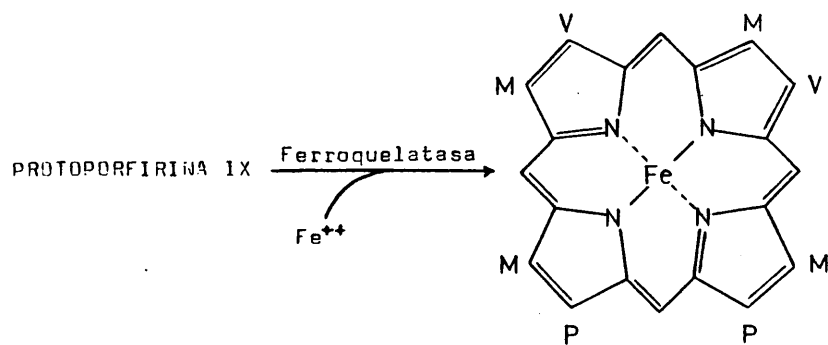


- Formación del Hemo (Figura 14):

En la reacción final, la enzima mitocondrial (121)(163) Fe ferroquelatasa o Hemosintetasa cataliza la inserción de hierro ferroso (Fe^{2+}), y no ferrico (Fe^{3+}), en el interior del anillo de la Protoporfirina (104).

No se ha demostrado que la enzima necesite cofactores aun que Labbe (143) sospecha que en la reacción participa el piridoxal fosfato. La Protoporfirina IX, así como otras dicarboxílporfirinas, son sustratos para la enzima Ferroquelatasa, no así sus porfirinógenos (142) (34). El glutatión reducido y el Cu bre aumentan su actividad. La enzima es inhibida por el oxígeno por un mecanismo desconocido (17), así como por el manganeso y el plomo. La inhibición por el plomo explica los niveles elevados de Protoporfirina IX en hematies en la intoxicación saturnina. La enzima Ferroquelatasa al igual que la ALA-S es inducible y puede ser objeto de inhibición por el hemo (104).

FIGURA 14: Formaci3n del Hemo.



BIOSINTESIS DEL HEMO

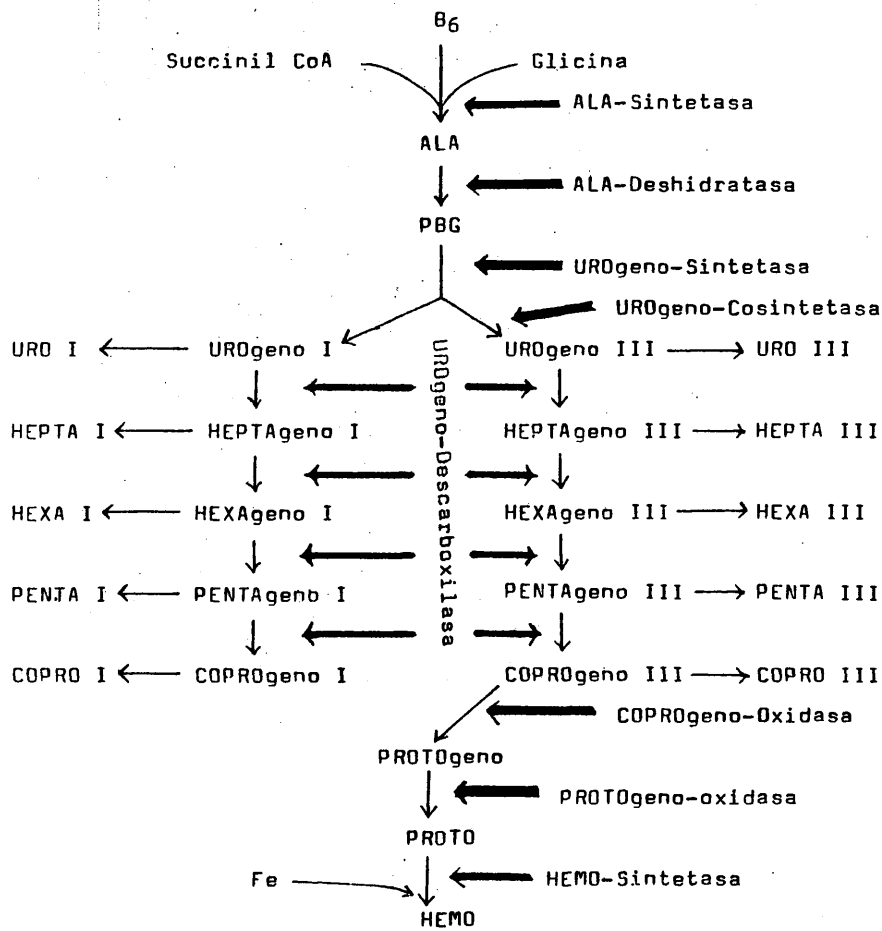


FIGURA 15

1.3.- Control de la biosíntesis del hemo

Existen múltiples mecanismos que controlan la biosíntesis del hemo. Sin embargo, ellos no han podido ser totalmente elucidados a pesar de los diversos estudios realizados por numerosos autores. Entre estos mecanismos destacan los genéticos y evolutivos, los efectos producidos por la concentración del oxígeno tisular, el control enzimático y quizá de este último mecanismo el control más importante se produce a nivel de la ALA-S. La observación de que la formación del ALA es aparentemente el único paso de la ruta biosintética que requiere energía y la corta vida media con rápido "turnover" de la ALA-S(201), obligan a considerar a esta enzima como limitante de la biosíntesis del hemo. Sassa (199) sugiere que un paso adicional en la formación del hemo, es la conversión de Proto IX en hemo por la enzima ferroquelatasa.

En la FIGURA 16 (14) observamos las diferentes etapas de la biosíntesis del hemo donde pueden actuar los mecanismos de control. En los puntos 1 y 3 actúan mecanismos de inducción-represión por "feed-back". En los lugares 2 y 6 podrían operar, aunque no ha sido posible demostrarlo, cambios en la permeabilidad mitocondrial o mecanismos de transporte activo(122). Los pasos 4, 5, 7 y 8 se afectan por la presión parcial de oxígeno.

Se han realizado mapas genéticos en relación con la ruta biosintéticas del hemo en el estafilococo aureus(231) y en el E. Coli (183). En los mamíferos se ha observado, en experimentos con ratones, que la síntesis de ALA-D es regulada por un único gen nuclear, en el locus levulinato (lv), con al menos dos alelos codominantes(192) (30). Los ratones homocigóticos para el alelo lv^a tienen en sus tejidos niveles de ALA-D más elevados que los homocigóticos para el lv^b. Esta diferencia pa-

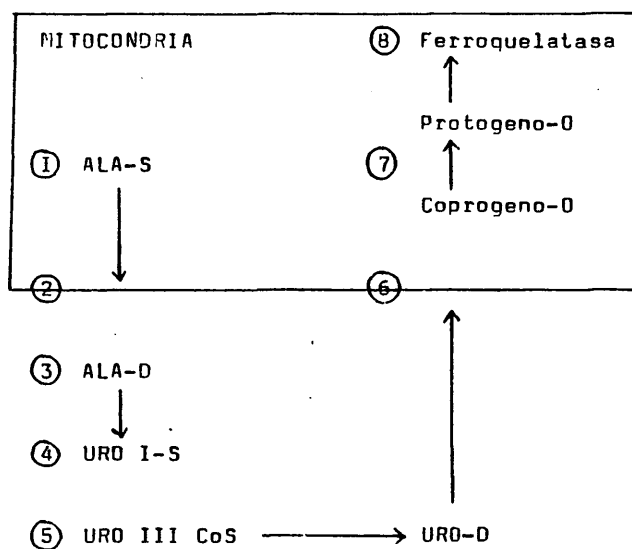


FIGURA 16:

Diferentes etapas de la biosíntesis del hemo donde pueden actuar los diferentes mecanismos de control.

rece que refleja una variación en la cantidad de enzima sintetizada, siendo las propiedades fisico-químicas o catabólicas - similares en ambas situaciones (49) (30). Sassa y cols. (198) - han demostrado que la regulación genética de la síntesis de ALA-D, en el hombre, también tiene expresión codominante.

Se han descrito cambios evolutivos en los niveles hepáticos de ALA-S (257) y ALA-D (49). En el hígado de embriones de - rata los niveles de ALA-S son mayores que en el del adulto, la actividad enzimática disminuye cerca del momento del nacimiento, para alcanzar los niveles adultos 3 ó 4 días después del - mismo. En el feto la enzima ALA-S, a diferencia de lo que ocurre en el adulto, no está sujeta a represión por el hemo y además puede ser estimulada por este (256).

La concentración del oxígeno afecta la actividad de diversas enzimas implicadas en la ruta biosintética del hemo. Falk y cols. (75) realizaron experimentos con eritrocitos de pollo y observaron que la incorporación de la Glicina es máxima a una concentración de oxígeno de 7 %, mientras que concentraciones superiores o inferiores la inhiben. En experimentos posteriores Frank y Porra (77) demuestran inhibición reversible, - con concentraciones de oxígeno superiores a 5-7 %, en el paso de PBG a Uroporfirinógeno, catalizado por la Porfobilinogenasa. Varios autores han señalado la necesidad del oxígeno - (195) (178)(10) en las sucesivas oxidaciones desde Coproporfirinógeno a Protoporfirina. La actividad de estas oxidaciones será máxima con una concentración de oxígeno del 20 % (178). En - condiciones de anaerobiosis, se produce una inhibición total del factor que solubiliza la ferroquelatasa (170) (172).

Los primeros en señalar que la ALA-S hepática de los mamíferos es un enzima inducible fueron Granick y Urata (98). Pos-

teriormente son múltiples los estudios que parecen confirmar esta observación (259) (53) (31). Las drogas inductoras de la enzima se han encontrado tanto en el citoplasma como en la mitocondria (105).

Son numerosos los trabajos, utilizando inhibidores de la síntesis de proteínas, en los que se afirma que el aumento de la actividad de la ALA-S se debe a un aumento de su síntesis, y no a activación de la enzima ya existente (100) (242). Sin embargo Patton y Beattie (173) sugieren que en el hígado de rata las drogas inductoras solo producen activación de los niveles pre-existentes de la ALA-S.

Se piensa que la inducción de la ALA-S podría ser un fenómeno "permisivo". Así por ejemplo, los glucocorticoides, incapaces por sí mismos de producir inducción ejercen su efecto permisivo incrementando la inducción originada por otras sustancias. Marver y cols. (158), en ratas adrenalectomizadas a las que administraron drogas inductoras, demostraron que se producía un aumento significativamente menor de la actividad de la ALA-S que en ratas normales, y que este efecto revertía al tratar a estos animales con cortisol. No se conoce ni el mecanismo ni el papel de los glucocorticoides quizá estimulan algún paso esencial, pero indefinido, en el comienzo de la inducción de la ALA-S (107). Lane y cols. (147) creen que quizá intervengan los receptores proteicos mitocondriales para el cortisol. Estos mismos autores han observado, en cultivos de células hepáticas de embriones de pollo, que la inducción de la ALA-S por la etiocolanólona, metabolito de la testosterona, se incrementaba al añadir cantidades fisiológicas de varios glucocorticoides, lo que traduce sin duda el comentado fenómeno "permisivo".

El hemo es otro de los compuestos implicados en la regulación de la ALA-S hepática. Son múltiples los estudios realizados tanto en animales vivos (159) (240), como en cultivos de células hepáticas (93) (242) (258) (217). Uno de los mecanismos de actuación del hemo reside en la inhibición por mecanismo "feedback" de la actividad del ALA-S (202) (149). No se conoce el mecanismo de este tipo de inhibición. Se ha sugerido que la hemina, derivado oxidativo del hemo, forma un compuesto con la ALA-S inactivándola. (179). Granick y Sassa (99) señalan que la concentración necesaria de hemo para realizar esta inhibición, probablemente no existe en la mitocondria. Se ha descrito que en presencia de hemo, la coproporfirina, protoporfirina y las metaloporfirinas pueden causar inhibición de la ALA-S (202). Otro de los mecanismos del hemo en la regulación de la ALA-S es la represión (149). "In vitro" es mucho menor la cantidad de hemo requerida para realizar esta represión que para producir inhibición (100). La represión del hemo sobre la ALA-S puede realizarse a dos niveles: a) represión de la síntesis de la enzima a nivel postranscripcional (197) (225), inhibiendo la translacción del mRNA de la ALA-S.

b) represión transcripcional (242), a nivel del genoma, disminuyendo la cantidad del mRNA.

Parece ser que la hemina, además, puede impedir el paso de la ALA-S del citoplasma a la mitocondria. Hayashi y cols. (107) en ratas inducidas con drogas, observan un incremento muy importante de la actividad citoplasmática de la enzima al administrar hemina. Para Ohashi y Kikuchi (172) en cambio, la hemina impediría la transformación de la forma citoplasmática de la enzima en la forma mitocondrial.

Para la escuela escocesa (18) (19) en la Uroporfirinoge--

no sintetasa (también denominada PBG-deaminasa) reside un secundario punto de control de la biosíntesis del hemo. La actividad de esta enzima es normal o baja en las porfirias agudas por lo que los precursores, ALA y PBG, se incrementan, mientras que en las porfirias no agudas, en el alcoholismo, y en el saturnismo, su hiperactividad evita el acúmulo de estos precursores, sobre todo del PBG, y ello a pesar de la de-represión de la ALA-S (167).

1.4.- Aspectos cuantitativos de la biosíntesis del hemo

Probablemente la biosíntesis del hemo se realiza en todas las células del organismo con metabolismo aerobio, pero los lugares donde esta síntesis predomina son: médula ósea e hígado. Se ha calculado la cantidad de hemo producida en médula que es alrededor de 300 mg/día, y en hígado que es aproximadamente de 50-100 mg/día (165) (110).

Tschudy y cols. (191) calcularon que la actividad total de ALA-S hepática en individuos normales es de unos 22 nanomoles/g/h.

Cuantitativamente son pequeñas las pérdidas de los diversos eslabones metabólicos involucrados en la biosíntesis del hemo, por lo que es preciso admitir que ésta se realiza con un alto grado de eficiencia.

1.5.- Fisiopatología de la excreción de las porfirinas

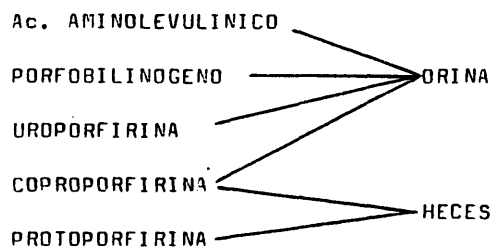
Las porfirinas pueden seguir dos diferentes vías, urinaria o fecal para su eliminación del organismo. La ruta de excreción que van a seguir depende de su hidrosolubilidad y esta última es función del número de grupos carboxílicos libres que poseen sus moléculas.

La Uroporfirina (UP), que posee ocho grupos carboxílicos libres en su molécula (porfirina octocarboxílica) es muy hidrosoluble y por lo tanto se elimina exclusivamente por orina, al igual que su porfirinógeno (196) (190). La Protoporfirina (PP), y el resto de las porfirinas dicarboxílicas poco hidrosolubles, se excretan únicamente por bilis (196) (190), en forma parecida a la bilirrubina y bromosulfaleína (BSP), utilizando mecanismos transportadores comunes (4). La Coproporfirina (CP), tetracarboxílica, se excreta preferentemente por vía bilio-fe-

cal (69)., mientras que su porfirinógeno puede utilizar ambas vías.(Figura 17).

Estudios realizados en ratas con altos niveles de Porfobilinógeno (PBG), conseguidos por inducción de Porfiria o por administración de PBG, indican que esta sustancia se excreta por filtración glomerular (94) (95). Así mismo, por administración intravenosa de ácido delta-aminolevulínico (ALA) se comprobó su eliminación exclusiva por orina (12). Posteriores observaciones en humanos, con niveles sanguíneos de ALA y PBG normales, sugieren que ambos precursores presentan una significativa reabsorción tubular, que en el caso del ALA representa al 90 % - 95 % (50). Junto a este mecanismo reabsortivo, al parecer saturable, existe un proceso secretorio aunque de menor capacidad (171).

FIGURA 17: Rutas de excreción de las porfirinas y sus precursores.



Al igual que las moléculas de hemo liberadas en el torrente sanguíneo durante la hemólisis, las porfirinas, sobretodo - las poco hidrosolubles, requieren un sistema de transporte plasmático. Koskelo y cols. (134) demostraron en 1970 que la Copro I y III, la Uro III y la Proto IX se unían a la albumina y la hemopexina, estando la afinidad de esta unión en función inversa con la hidrofiliicidad de las porfirinas que, como ya mencionábamos, depende del menor número de grupos carboxílicos presentes en las cadenas laterales de sus moléculas.

La hemopexina posee una mayor afinidad por la Copro que la albumina y así probablemente transporta la mayor parte de la Copro circulante hasta el hígado. Tanto la albumina como la hemopexina muestran similar afinidad por la Proto (211), pero la mayor parte de esta porfirina que puede existir circulante se encuentra posiblemente ligada a la albumina cuya concentración plasmática supera en unas 30 veces a la hemopexina. Parecen existir indicios de una tercera proteína plasmática transportadora de Proto (135). La hidrosoluble Uro evidencia una baja afinidad tanto por la hemopexina como por la albumina, lo que explica su exclusiva eliminación renal (137).

La hemopexina es una glicoproteína de unos 57.000 Daltons de peso molecular (210) originada fundamentalmente en el hígado que es el órgano en donde el complejo Copro-hemopexina interacciona con un receptor específico liberándose posteriormente Copro hacia el citoplasma (136). La Uro, que apenas interacciona con la hemopexina ni con la ligandina, no parece ser transportada a través del hígado hacia la bilis, mientras que el mecanismo de transporte de Proto desde el plasma al hepatocito no está aún aclarado (138).

Koskelo y cols. (136) comprobaron la presencia de 4 frac-

ciones hepáticas ligadoras de Copro III, siendo una de ellas inmunologicamente idéntica a la ligandina. Esta proteína, particularmente abundante en el hígado, de peso molecular de 46.000 daltons, y descrita por la escuela de Arias (152), se liga no covalentemente a un numeroso grupo de compuestos, tales como hemo (164) (151).

Diversos trabajos experimentales han demostrado la existencia de fenómenos competitivos entre porfirinas, BSP y bilirrubina (17) (127) (224) (236) (8), habiéndose comprobado incluso cómo la BSP desplaza a las porfirinas de su unión a la ligandina (233). Recientemente ha sido identificada en la membrana del hepatocito una proteína, denominada bilitranslocasa, encargada de transportar al interior del mismo a la BSP y a la bilirrubina (234), siendo muy posible que las porfirinas utilicen también este "túnel molecular" para penetrar en la célula hepática.

En la Catedra del Prof. Gilsanz, nuestro grupo de trabajo y el Dr. Ladero Quesada han realizado amplios estudios sobre modificaciones en el metabolismo hepático de la BSP en la Porfiria Cutánea Tarda humana y en su modelo experimental inducida a ratas mediante hexaclorobenceno (72) (144) (5).

Estos mismos autores observaron en mujeres postmenopausicas que el etinilestradiol reducía la excreción biliar tanto de BSP como de porfirinas, por lo que es posible que entre estos aniones orgánicos exista también competencia para su excreción hepato-biliar. Kaplowitz y cols. (127) han sugerido que la membrana hepática contiene un transportador común a ambos isómeros de la Copro, pero con una configuración tal que favorecería la excreción del isómero I. En la Figura 18, tomada de -

Enríquez de Salamanca y cols. (69) representamos este hipotético transportador cuyos puntos de "amarre" estarían situados a una distancia tal que fuese la equivalente a la que existe entre dos grupos propiónicos de las cadenas laterales de la Copro. Tal distancia se correspondería con las cuatro posiciones posibles del simétrico isómero I, mientras que el asimétrico isómero III solo podría acoplarse sobre el transportador en las dos únicas presentaciones (A y B) en las que sus radicales propionicos están a la adecuada distancia. Kondo y cols. (130) emiten la hipótesis de que un transportador similar podría existir en el paso de ambos isómeros de la Copro (o mejor del Coprogeno) desde la célula hepática hacia el plasma, e incluso sospechan que este transportador podría ser anómalo en los pacientes con Síndrome de Dubin-Johnson.

Sea como fuere, es indudable que el isómero I de la Copro es excretado preferentemente por vía biliar, como lo prueba el hecho de que en el hígado predomina el isómero III (127), siendo la relación I/III de 0,6/1 (127), mientras que en bilis el isómero I es el predominante (86) siendo dicha relación de 2,5/1 (127). La Copro III representa en condiciones también normales entre el 70 y el 80 % de la coproporfirinuria total (132) (45) (139) (15).

La administración de ALA incrementa este predominio del isómero III de la Copro (45), lo que sugiere, dado que el ALA exógeno es apenas utilizado en la síntesis de hemoglobina (12) (115), que la contribución del hígado en esta porfirina urinaria es mayor que la del tejido eritropoyético. Shimizu y cols. (216) observaron que tras la inyección de ^{14}C -ALA la actividad específica de Copro I excretada por orina fué sólo de 1/18 de la Copro III, lo que indica que sólo una pequeña parte del

isómero I (menos del 10 % del total de la Copro urinaria), se origina en el hígado. Este isómero I proviene pues fundamentalmente del tejido eritropoyetico, y así se explica el que la excreción urinaria de Copro I se incrementa ante situaciones de eritropoyesis acentuada (6) y se reduzca esta última se deprime (216).

Ante situaciones colestáticas el isómero I de la Copro se ve forzado a excretarse por orina (127) (6) (131) (133), - mientras que en las hepatopatías no colestáticas y en el alcoholismo (6), (227) la coproporfirinuria es de isómero III predominantemente traduciendo una hiperporfirinosíntesis hepática (213) (150). Estos y otros interesantes aspectos de la fisiopa tología de la excreción porfirínica han sido revisados en profundidad recientemente por Enríquez de Salamanca y cols. (69) y por Doss (47).

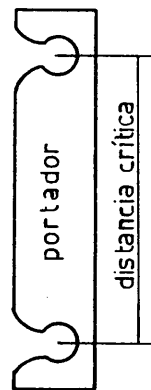
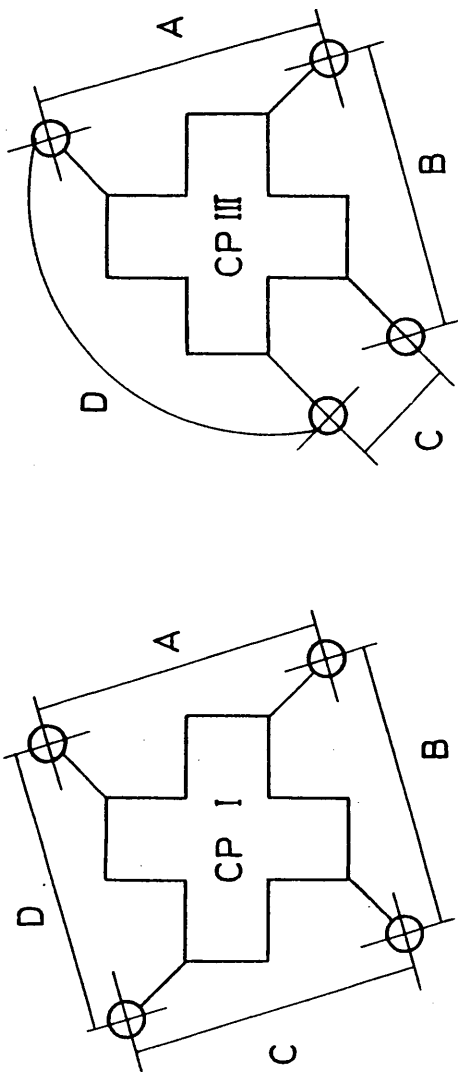


FIGURA 18.- TEORIA DEL TRANSPORTADOR COMUN EN LA EXCRECION BILIAR DE ISÓMEROS I Y III DE LA COPROPORFIRINA (CP).

I.6.- Cuantía de la excreción porfirínica normal

Aunque, como ya mencionabamos anteriormente, la biosíntesis del hemo se realiza con un alto grado de eficiencia, se producen pequeñas pérdidas en los diferentes escalones metabólicos.

Existen diversas revisiones bibliográficas sobre la cuantía normal de excreción de porfirinas realizadas por varios autores, entre ellas las de Eales y cols. (52) en 1966, Fernandez y cols. (80) en 1966, Watson y cols. (239) y Fogstrup y With (85) en 1979. En nuestra Tesina de Licenciatura (174) se efectuó así mismo una revisión de la excreción cuantitativa normal de porfirinas en orina y heces que queda reflejada en las tablas II y III. En el presente trabajo hemos ampliado esta revisión (tabla-IV y V). En la tabla VI se puede observar la excreción cuantitativa de la excreción fecal en individuos normales expresada en sus cifras medias de eliminación diaria, según diversos autores. A partir de estos datos podemos deducir que los límites superiores de la normalidad son aproximadamente de 1000 $\mu\text{g}/24 \text{ h}$ para la Copro (CP) y 3000 $\mu\text{g}/24 \text{ h}$ para la Proto (PP) y unos 100 $\mu\text{g}/24 \text{ h}$ para la Uro (UP). Estos valores son mucho más elevados que las cifras de la porfirinuria fisiológica, que más adelante podremos observar, debe ser inferior a los 200 - 250 $\mu\text{g}/24 \text{ h}$ ó día. Resulta pues evidente que las heces constituyen la principal ruta excretoria de las porfirinas. Sin embargo dada la gran variabilidad en el grado de hidratación de las heces y sobre todo la enorme dificultad práctica que supone la recolección de las heces emitidas en 24 h, la mayoría de los autores expresan sus resultados como microgramos de porfirinas por gramo de heces desecadas ($\mu\text{g}/\text{g}$ seco).

En las heces además de las fracciones CP, UP y PP existen

otras porfirinas como la deuterio, meso y pemptoporfirinas, así como porfirinas octo, hepta, hexa, penta y tricarbónicas, la revisión de los datos de otros autores sobre estas carboxilporfirinas, sólo objetivables por cromatografía, se estudian - en la sección de comentarios.

TABLA II

EXCRECION URINARIA DE PORFIRINAS EN SUJETOS NORMALES
límites superiores de la normalidad o cifras medias

AUTOR	CP $\mu\text{g}/\text{l}$	UP
Brodie	< 227 (1) < 149 (2)	< 22 (1) < 18 (2)
Eales (1963) Blancos	< 130	
Mestizos	< 183	
Negros	< 204	
Eales (1966)	< 180	< 40
Elder (1975)	< 160	< 30
Lamber (1969)	< 124	< 30
Meyer y Schmid	< 300	< 50
6 grupos de investigadores citados por Eales en 1976, obtienen los si- guientes valores medios:		
	\bar{x} 90	\bar{x} 9
Moore (1972)	\bar{x} 53,7	\bar{x} 1,3
Mustajoki (1976)	\bar{x} 81	\bar{x} 12
Reizenstein (1975)	\bar{x} 100	\bar{x} 10
Sanchis-Cervera (1974) Varones:		
	\bar{x} 63,2	\bar{x} 4,9
Mujeres:		
	\bar{x} 82,15	\bar{x} 10,25

(1) Datos expresados en: $\mu\text{mol}/\text{l}$.

(2) Datos expresados en: $\mu\text{g}/\text{l}$.

TABLA III

PORFIRINAS FECALES: Límites superiores de la normalidad

AUTOR	CP $\mu\text{g/g seco}$	PP
Barnes y Dean	15	45
Barnes, Overton y Sweet	25	50
Berger y Goldberg	15	30
Donaldson y Rimington	15	54
Eales, Levey y Sweeney	27	75
Grosser y Eales	69	102
Gajdos y Gajdos-Torök	12	41
Haeger-Aronsen	6	39
Holti, Rimington, Tate y Thomas	20	30
Lundvall y Wainfeld	20	40
Marver y Schmid	50	120
Mazza, Battistini y Prato	19	30
Moore, Thompson y Goldberg	45	110
Rimington, Morgan, Nicholls,.....	15	54
Ziprkowski, Drakowski, Crispin,..	11	49
Pereira Martins y Silva	34	68
Tadeini y Watson	33	107

TABLA IV
EXCRECION URINARIA DE PORFIRINAS EN SUJETOS NORMALES

AUTORES	Nº casos	CP valores medios \bar{x} µg / l	UP límites	CP límites	UP
Schwartz y cols. (157)	—	—	—	100 - 250	10 - 30
Heilmeyer (158)	44	77 ± 31	6 ± 5	—	—
Taddeini y Watson (159)	—	—	—	< 280 (1)	< 60 (1)
Mas y cols. (160)	48	58 ± 38	2,5 ± 3,3	—	—
Day y Eales (161)	36	61,9 (1)	3,9 (1)	17 - 152	0 - 12,2
Mustajoki (162)	30	90	15	0 - 152	0 - 28

(1) µg / dia.

TABLA V

EXCRECION FECAL DE PORFIRINAS EN SUJETOS NORMALES

AUTORES	Nº casos	CP valores medios µg / g seco	PP \bar{x}	CP límites	PP límites
Barnes (163)	18	7	16	0 - 11	0 - 37
Eales y Saunders (164)	44	7	28	0 - 27	0 - 99
Watson y cols. (154)	20	18,9 ± 32,5	23,5 ± 15,3	15,1	24,1
Lamberg y cols. (165)	—	—	—	< 16,3	< 66,6
Dehlin y cols. (166)	48	5 ± 3	16 ± 10	1 - 11	4 - 52
Elder (167)	—	—	—	< 41	< 135
Mustajoki y Koskela (168)	30	7,3 ± 5,5	18 ± 9	—	—
Brodie y cols. (169)	—	—	—	< 49	< 112
Mustajoki (162)	30	7	26	0 - 15	0 - 57
Day y Eales (161)	21	17,3	49,8	9 - 29,5	18,5 - 111

TABLA VI

EXCRECION FECAL DE PORFIRINAS EN SUJETOS NORMALES

Cifra media diaria en μg

AUTORES	CP	PP	UP
Goldberg y Rimington (94)	614 \pm 255		50
Tadeini y Watson (229)	388 \pm 207 (4)	1306 \pm 1055	70 \pm 34
England y cols. (66)	422 \pm 204	955 \pm 572	
Sweeney (228)	680 (2)	1900	35
Herbert (110)	500	750	
Swchart (206)	400 a 1100	?	10 a 40

(1) Datos expresados en $\mu\text{g}/100$ g de heces.

(2) Suma de 310 μg de CP I y 170 μg de CP III

II.- OBJETIVOS

Desde nuestra incorporación, hace ya casi 4 años, al grupo de trabajo que sobre metabolismo porfirínico dirige el Dr. Enríquez de Salamanca en los laboratorios de la Catedra de Patología Medica del Prof. Gilsanz, se nos encargo la específica tarea de reunir una amplia casuística que nos permitiera establecer la cuantía y la calidad de la excreción porfirínica en individuos normales. Este objetivo básico constituye sin duda el ineludible punto de partida para futuras investigaciones.

Tras el estudio bibliográfico de la bioquímica y fisiopatología del metabolismo porfirínico, nos propusimos analizar - la excreción urinaria y fecal de porfirinas en individuos normales por métodos de extracción y partición solvente y cromatografía en capa fina de sus metil esteres, para posteriormente comparar nuestros resultados con los obtenidos por otros autores.

De especial interes nos parecio el análisis de la excreción porfirinica en razón del sexo y la edad de los individuos analizados, ya que las diferencias sexuales podrian ejercer alguna influencia sobre el metabolismo porfirínico.

En 3 individuos normales y 2 pacientes afectados de Porfiria Cutanea Tarda estudiamos las posibles oscilaciones nictamerales de la eliminación porfirínica.

III.- MATERIAL

III.1.- Material humano

Se ha estudiado la eliminación normal de porfirinas tanto cuantitativa como cualitativamente, en dos muestras de población, presuntamente sanos, escogidos al azar. La primera serie comprende 219 personas, 103 varones y 116 mujeres, con edades comprendidas entre los 2 y los 80 años, en los que se ha estudiado la eliminación urinaria de porfirinas, tanto cuantitativa como cualitativa. La segunda serie comprende 176 personas, 84 varones y 92 mujeres, con edades comprendidas entre los 2 y los 80 años, en los cuales se ha determinado la eliminación fecal de porfirinas, tanto cuantitativa como cualitativamente. - Para considerar a estos individuos como sanos, nos hemos basado en la ausencia de datos clínicos que pudieran indicar la existencia de cualquier patología. De las mujeres incluidas en ambas series, ninguna estaba tomando preparados estrogénicos, ni estaba embarazada.

También hemos estudiado, en un grupo de 30 varones y 30 mujeres considerados normales, la eliminación de los precursores de las porfirinas, ALA y PBG, en orina recién emitida.

Así mismo, se ha realizado un estudio del ritmo nictameral de la excreción de porfirinas en tres individuos normales y en dos pacientes diagnosticados de Porfiria Cutanea Tarda.

III.2.- Material instrumental

- Reactivos y materiales usuales de laboratorio (Éter acético, acetato de etilo, cloroformo,..... etc)
- Porphirinas puras en su forma de metil-ésteres procedentes de Porphyrin Products B. Burhan Utah. U.S.A.
- Placas de sílica-Gel 0,25 mm de espesor sin indicador de -

fluorescencia, con soporte de aluminio o vidrio. Laboratorios Merck.

- Cubetas de cromatografía en capa fina.
- Microjeringas Hamilton de 5 - 10 - 25 y 100 μ l.
- Fuente de luz ultravioleta a 366 nm, Athom.
- Estufa marca T.D.
- Balanza marca Cobos. Mod 502/2.
- Centrífuga marca M.S.E., Mod. Superminor.
- Aparato para la medición del pH marca Metrohm Herrsan, Mod. E 510
- Espectrofotómetro marca Beckman, Mod. DB-GT. Con registrador gráfico incorporado, para la obtención del espectro.
- Baño María marca Unitronic, Mod. 320.
- Scanner-fluorímetro marca Camag, Mod. T-Scanner. Provisto de un fotomultiplicador sensible al rojo R.T.V. R-136, dotado - de un filtro primario azul nº 813 y otro secundario de características propias. Se halla conectado a un registrador gráfico W+W 1.100. La amplitud de las áreas registradas puede regularse mediante un mando expansor de escala.
- Kit Bio-Rad (Resinas de intercambio iónico) para la determinación de ALA y PBG. Laboratorios Bio-Rad.

IV.- METODOS ANALITICOS

IV.1.- Métodos cuantitativos de extracción y partición solvente:

En orina se realiza la determinación de las fracciones copro y uroporfirina por el método de Gajdos y Gajdos-Torok (90).

En heces se realiza la determinación de las fracciones copro y protoporfirina por el método de Holti y cols. (111).

- Método de Gajdos y Gajdos-Torok (90):

50 ml de orina se mezclan con 100 ml de éter acético al 5 %, se agitan vigorosamente en un embudo de decantación, dejando separar fases. La copro pasa al éter que es lavado dos veces con 10 ml de acetato sódico al 3 %. La primitiva fase acuosa y estas aguas de lavado de acetato se reúnen para la determinación de la URO (fracción B). Del éter se extrae la COPRO con CLH al 5 % en sucesivas extracciones y se ajusta el pH de estas fracciones clorhídricas a 4 con acetato sódico cristalizado, volviéndose a pasar la COPRO al éter (100 ml), comprobándose este paso mediante el examen de la fluorescencia bajo la luz ultravioleta. Lavar el éter con una solución de Iodo (1/10.000) para convertir el coproporfirinógeno en coproporfirina y posteriormente lavar con acetato sódico al 3%. Extraer la COPRO con varias porciones de CLH al 5 % y leer en el espectro fotómetro en 380, 430 y 402 mμ.

Cálculos:

$$\text{COPRO} = 2 \times D_{402} - (D_{380} + D_{430}) \times 0,817 \times \text{Vol. final ml} \times 2 \times 10. \mu\text{g/l}$$

La fracción denominada B, se ajusta a pH 4 con acetato sódico cristalizado y la solución se vierte en un embudo de decantación en el que se añade el doble de su volumen de una solución de acetato de etilo-ácido acético glacial en proporción

3:1 que capta la URO existente. Después de un rápido lavado con agua destilada, extraer la URO con pequeñas fracciones de CLH al 5 % hasta la completa desaparición de la fluorescencia. Leer en 380, 430 y 405 mμ frente a un blanco de CLH.

Cálculos:

$$\text{URO} = 2 \times D_{405} - (D_{380} + D_{430}) \times 0,831 \times \text{Vol. final ml} \times 2 \times 10 = \text{Ag/l}$$

- Método de Holtz y cols. (111):

Esta basado en la extracción mediante éter acidificado de las porfirinas éter-solubles (COPRO y PROTO). Es sencillo rápido, pero inexacto, pues aparte de no estimar la URO (éter insoluble) las fracciones obtenidas y denominadas COPRO y PROTO son en realidad mezcla de radicales carboxílicos.

Se toman 0,5 g de heces y se homogeneizan con varias fracciones de éter acidificado con ácido acético (en proporción 10:1), centrifugándose y decantando el éter en un embudo de decantación. Lavar el éter con acetato sódico al 3 %, solución de Iodo y agua, extraer la COPRO con pequeñas y sucesivas cantidades de CLH al 0,1 N hasta la desaparición de la fluorescencia. La PROTO se extrae con CLH al 5 %. Las clorofilas permanecen en la fase eterea debido a su mucho más alto nº clorhídrico.

Cálculos:

$$\text{COPRO} = 2 \times D_{402} - (D_{380} + D_{430}) \times \text{Vol. final ml} \times 0,817 \times 2 = \text{Ag}$$

/g de heces frescas

$$\text{PROTO} = 2 \times D_{408} - (D_{380} + D_{430}) \times \text{Vol. final ml} \times 1,222 \times 2 = \text{Ag}$$

/g de heces frescas

Debido al distinto grado de hidratación de las heces es usual la expresión de los resultados en Ag de porfirinas por g de heces desecadas, para lo cual una muestra de heces se lleva a la estufa a 100° C hasta obtener un peso constante para ave-

riguar el factor multiplicador.

IV.2.- Determinación cuantitativa de los precursores ALA y PBG mediante cromatografía en columna por resinas de intercambio iónico:

- Método de Mauzerall y Granick (162):

1 ml de orina recién emitida, se ajusta el pH a 4, pasándose posteriormente por un sistema de doble columna. La columna superior que contiene una resina aniónica (AG-1X8, 100-200 mesh, en forma acetato) absorbe el PBG y la inferior cuya resina es catiónica (AG 50W-X4, 100-200 mesh, en forma hidrogenada) absorbe el ALA. La urea se lava de las columnas mediante sucesivos pases con agua destilada.

El PBG se eluye de la columna mediante 10 ml de ácido acético glacial 1 M y conservando para la sucesiva reacción colorimétrica con el reactivo de Ehrlich.

El ALA se eluye de la columna por medio de 7 ml de acetato sódico 1M. Al eluido se añaden 0,2 ml de acetyl-acetona, se lleva a baño María a 90°C aproximadamente, durante 10 minutos para dar lugar a la reacción de condensación para la formación del grupo pirrolico. Se lleva a la temperatura ambiente y se añade el reactivo de Ehrlich.

Pasados 15 minutos se lee la densidad óptica de las muestras a 553 nm frente a un blanco que no contiene ni ALA ni PBG.

Los valores normales producen una coloración amarillenta, mientras que los valores elevados dan un color rojo. Por lo que es posible hacer una rápida valoración visual.

Los valores se obtienen:

$$\text{ALA} = D_{553} \times 47 = \text{mg/l}$$

$$\text{PBG} = D_{553} \times 74,6 = \text{mg/l}$$

IV.3.- Métodos de separación fraccionada:

- Cromatografía sobre capa fina de los metil-ésteres de las porfirinas:

El procedimiento requiere en primer lugar la esterificación de las porfirinas libres y la conversión en los metil-ésteres correspondientes. Seguidamente, los metil-ésteres de las porfirinas son extraídos en una solución clorofórmica y finalmente, este extracto clorofórmico se coloca en una placa especial cromatográfica. En conjunto se realizan las etapas siguientes:

a) Esterificación:

Se ajusta el pH de la orina mediante ácido acético glacial a 3 - 4. Se añaden 5 - 10 g de talco por cada 100 ml de orina, en el talco quedan absorbidas las porfirinas urinarias. Después de filtrar y secar el talco en estufa a 37°C y en oscuridad, éste talco desecado se trata con metanol-sulfúrico (95:5 vol/vol) durante al menos 24 horas para convertir las porfirinas en sus metil-ésteres. Las heces pueden ser tratadas con metanol-sulfúrico para la esterificación (228).

b) Extracción:

Después de centrifugar, el metanol-sulfúrico es llevado a un embudo de decantación en el que se añade el cloroformo (10-20 ml), agua destilada (100 - 150 ml) y una cantidad suficiente de una solución al 5 % de amoníaco para llevar el pH alrededor de 4, para evitar así la hidrólisis parcial por una acidez excesiva. Se agita vigorosamente. El cloroformo extraerá los metil-ésteres de las porfirinas, y después de un lavado con agua destilada, se filtra a través de sulfato sódico anhidro. Mediante examen de estos extractos clorofórmicos a la luz ultravioleta se podrá apreciar de forma aproximada la cantidad

de porfirinas presentes para decidir sobre la necesidad o no de concentrar dichos extractos.

Los residuos secos de los extractos clorofórmicos pueden ser guardados y almacenados en la oscuridad sin perder actividad durante al menos un año (249).

c) Cromatografía:

Los extractos clorofórmicos son aplicados mediante microjeringas Hamilton a placas de sílica gel, que puede ser previamente activadas mediante calentamiento a 80 - 100° C durante - 30 - 60 min.. La aplicación puede realizarse en forma de bandas longitudinales de 1 - 2 mm de ancho por 2 - 4 cm de largo, o en forma cuantitativa si lo que se pretende es cromatografía cuantitativa. Las placas se someten a un corto recorrido en cloroformo metanol (130:20 vol/vol) hasta que las bandas hayan ascendido 1 - 2 cm y formen un nuevo frente más estrecho y purificado. Secar mediante aire caliente. En ocasiones puede ser útil un recorrido previo de la placa en un solvente formado por éter de petróleo-dietileter (4:1 vol/vol) con lo cual los ésteres del colesterol, triglicéridos y los metil-ésteres de los ácidos grasos emigran en el frente del recorrido separándose perfectamente de las porfirinas.

Empleamos el solvente sugerido por Sears y Cols. (209) - consiste en tetracloruro de carbono-diclorometano-acetato de etilo (2:2:1:1 vol/vol). Se realiza un recorrido de unos 16 cm - tras lo cual la placa es secada bajo corriente de aire caliente.

La detección de porfirinas bajo la luz ultravioleta puede ser intensificada volviéndose a correr las placas en un nuevo solvente formado por cloroformo-Keroseno (7:3 vol/vol), (38).

e) Medición fluorimétrica de los cromatogramas:

Existen grandes variaciones en la intensidad de la fluorescencia ante iguales cantidades de Uro, Copro y Protoporfirina. La Coproporfirina produce siempre tras un scanning un área mayor que iguales cantidades de Uro y Proto, por lo que tomando a esta porfirina como patrón se han de calcular empíricamente unos factores correctores para la comparación de las distintas áreas de cada una de las bandas de los cromatogramas. Day y cols (38) usando un Vitatron 100 para realizar la fotodensitometría de los cromatogramas calcularon los siguientes factores: Uro = 1,59; Proto = 3,39; Copro = 1 para cantidades de porfirinas superiores a 0,05 µg. Los factores de corrección para el cálculo de las otras carboxilporfirinas se obtienen por extrapolación de los anteriores. Nosotros hemos utilizado un Scanner "Camag - Turner" y los factores empleados fueron:

2 COOH	2,79
4 COOH	1
5 COOH	1,15
6 COOH	1,30
7 COOH	1,50
8 COOH	1,63

Las áreas registradas fueron planimetradas para calcular el reparto porcentual correspondiente a cada carboxil-porfirina.

También se han calculado los índice-PCT ideados por Enríquez de Salamanca y cols. (70) (71). Estos índices resumen los datos más característicos de los patrones urinarios y fecales. Su cálculo se obtuvo mediante las siguientes formulas:

$$I \text{ urinario PCT} = \frac{\% 7\text{-COOH} \times 100}{\% 7\text{-COOH} + \% 4\text{-COOH}}$$

$$I \text{ fecal PCT} = \frac{(\% 7\text{-COOH} + \% P_1) \times 100}{\% 7\text{-COOH} + \% P_1 + \% 4\text{-COOH}}$$

- Metodo Creatinina:

El método utilizado fué el de Von Pilsen. El cálculo de la creatinuria fué realizado por los Drs. Amarillas y Roldan.

IV. 4.- Métodos estadísticos:

El estudio estadístico de los datos analíticos obtenidos en el presente trabajo se ha realizado en un ordenador IBM 3032 de 8 MBytes de memoria real, empleando el sistema operativo MV S-TSO con una memoria virtual de 16 MBytes. El lenguaje de programación utilizado ha sido el PL/I. El estudio estadístico - comprende la media estadística, desviación standard y coeficiente de variación de todos los parametros en su conjunto, se parando por grupos de edad y sexos. Así mismo, se ha calculado la t de student para valorar si las diferencias entre los valores medios obtenidos entre grupos son estadísticamente significativas. También se ha calculado el coeficiente de correlación y su recta de regresión para determinados parámetros.

V.- RESULTADOS

Los protocolos generales con los valores individuales de la excreción porfirínica analizada tanto por métodos cuantitativos como cualitativos quedan reflejados en las tablas VII y VIII.

El estudio estadístico de la casuística que comprende: media, coeficiente de variación y desviación standard, para todos los casos estudiado, tanto en orina como en heces pueden observarse en la tabla IX. El mismo estudio estadístico pero separando por grupos de edades esta presente en la tabla X, para grupos de 10 en 10 años y en la Tabla XII para grupos de 20 en 20 años. En las Tablas XI y XIII quedan reflejadas la t de student para los grupos de 10 en 10 y de 20 en 20 respectivamente. En la tabla XIV se aportan los coeficientes de correlación y rectas de regresión de diversos parámetros

En la Tabla XVI podemos observar los valores individuales obtenidos de ALA y PBG, mientras que la Tabla XVII muestra sus valores medios.

El estudio del ritmo nictameral, de tres individuos normales (A, B y C) y de dos pacientes porfiricos (D y E), de la excreción urinaria de porfirinas se muestran en la figura XXI.

TABLA VII

EXCRECION CUANTITATIVA Y REPARTO PORCENTUAL DE PORFIRINAS EN PRESUNTOS NORMALES. Fracciones COPROPORFIRINA (CP), UROPORFIRINA (UP) y reparto porcentual de las porfirinas OCTO, HEPTA, HEXA, PENTA y TETRA carboxílicas.

Nros	Sexo	Edad	CP	UP	COOH					INDICE
					8	7	6	5	4	
			µg/l				%			
1	V	2	37	0	12,59	2,37	1,86	0,62	82,56	2,79
2	V	5	29	8	22,39	2,98	1,28	-	73,35	3,90
3	V	5	33	7	22,14	5,99	0,72	1,60	69,55	7,93
4	V	6	57	4	9,80	2,82	0,68	3,82	82,88	3,29
5	V	7	56	1	17,70	3,01	-	0,83	78,46	3,69
6	V	7	81	5	26,06	7,98	1,06	1,06	63,84	11,11
7	V	8	9	1	13,09	2,40	1,20	1,87	81,44	2,86
8	V	8	22	0	12,80	2,56	0,28	1,86	82,50	3,01
9	V	8	34	6	8,82	1,78	0,78	2,35	86,27	2,02
10	V	8	59	8	20,70	6,34	1,26	3,06	68,64	8,45
11	V	9	33	2	8,39	4,29	0,24	3,09	83,99	4,86
12	V	9	31	3	12,22	5,51	1,19	3,58	77,50	6,64
13	V	9	21	3	14,71	4,35	1,50	4,36	75,08	5,48
14	V	9	63	4	15,57	4,48	2,47	2,01	75,47	5,60
15	V	9	104	6	24,85	4,94	0,95	1,67	67,59	6,81

53

TABLA VII (cont.)

Nºcasos	Sexo	Edad	CP	UP	COOH				INDICE
					8	7	6 %	5	
16	V	10	84	4	11,63	1,02	-	1,63	85,72
17	V	12	12	2	17,83	7,50	2,44	2,81	69,42
18	V	13	10	3	10,57	2,96	0,39	1,03	85,05
19	V	14	37	6	7,37	2,84	1,13	1,70	86,96
20	V	14	116	11	22,97	7,22	0,45	0,58	68,78
21	V	14	90	8	0,85	-	-	-	99,15
22	V	15	31	5	20,31	4,63	2,35	4,93	67,78
23	V	15	92	5	19,42	3,77	2,87	3,57	70,37
24	V	15	31	0	17,34	6,98	-	4,86	70,82
25	V	16	90	11	29,56	4,83	2,41	4,37	58,83
26	V	16	64	3	6,08	3,72	0,99	3,60	85,61
27	V	16	69	1	16,06	11,68	5,84	8,03	58,39
28	V	18	34	8	20,29	5,10	2,27	4,31	68,03
29	V	19	28	0	9,25	1,46	-	-	89,29
30	V	19	41	11	10,31	2,19	-	-	87,50
31	V	19	45	5	14,80	5,96	0,90	12,45	65,89
32	V	20	44	4	11,40	4,22	-	3,68	80,70

TABLE VII (cont.)

Nºcasos	Sexo	Edad	CP	UP mg/l	COOH				INDICE
					8	7	6 %	5	
33	V	21	53	0	2,99	-	-	-	0,00
34	V	21	48	2	11,06	1,70	0,51	-	1,92
35	V	22	42	2	24,04	4,51	2,32	0,82	6,19
36	V	22	66	10	17,05	1,89	1,05	-	2,30
37	V	23	60	9	17,32	5,77	3,50	1,98	7,47
38	V	23	55	0	1,37	1,02	5,14	-	1,09
39	V	23	57	0	17,75	2,54	-	-	3,08
40	V	23	89	9	13,32	2,57	-	-	2,96
41	V	23	57	2	18,13	4,77	0,79	-	5,88
42	V	24	39	0	1,00	-	0,50	-	0,00
43	V	24	41	0	7,00	5,63	2,04	1,71	6,31
44	V	25	120	8	16,25	3,98	1,33	1,33	4,90
45	V	27	64	4	4,34	1,89	5,06	0,90	2,10
46	V	28	66	2	-	-	-	-	0,00
47	V	28	54	2	-	-	-	-	0,00
48	V	28	60	8	12,06	5,84	5,64	2,53	7,32
49	V	29	53	7	16,51	2,96	2,65	-	3,66

TABLA VII (cont.).

Nº casos	Sexo	Edad	CP	UP	COOH				INDICE
					8	7	6 %	5	4
50	V	29	49	1	12,22	3,74	1,49	1,50	81,05
51	V	30	94	9	9,22	3,71	0,90	5,17	80,99
52	V	30	103	3	17,03	11,72	6,09	8,13	57,03
53	V	32	46	0	3,66	1,60	-	3,20	91,54
54	V	33	28	3	10,43	3,19	-	1,27	85,11
55	V	33	25	6	16,54	6,74	2,04	0,89	73,79
56	V	33	53	0	14,02	-	-	-	85,98
57	V	33	52	3	19,09	5,05	1,97	1,23	72,66
58	V	34	62	2	5,71	1,18	-	0,59	92,52
59	V	35	122	8	12,85	6,43	2,42	3,15	75,15
60	V	36	87	8	4,61	3,84	-	1,34	90,21
61	V	36	102	0	2,88	1,33	-	0,45	95,34
62	V	37	83	4	6,22	2,00	-	5,11	86,67
63	V	37	60	2	5,23	0,78	-	-	93,99
64	V	37	59	7	10,29	8,12	-	2,17	79,42
65	V	38	120	13	17,13	4,55	-	4,02	74,30
66	V	38	99	7	21,69	7,94	1,06	3,17	66,14

TABLA VII (cont.)

Nºcasos	Sexo	Edad	CP	UP µg/l	COOH				INDICE
					8	7	6 %	5	
67	V	38	34	0	6,67	0,74	-	-	0,79
68	V	39	74	9	9,24	5,09	2,08	4,34	6,03
69	V	42	60	5	9,66	2,96	0,59	0,99	3,33
70	V	42	79	7	13,81	0,42	-	2,09	0,50
71	V	42	58	1	4,14	1,38	0,69	5,00	1,53
72	V	42	52	3	30,10	12,82	-	-	18,36
73	V	43	34	2	10,58	6,52	-	0,29	7,32
74	V	45	72	8	11,31	3,83	-	-	4,32
75	V	47	51	16	4,04	0,73	-	0,37	0,76
76	V	47	44	3	10,22	5,78	0,44	3,56	6,74
77	V	48	82	4	18,94	11,11	2,22	2,12	14,48
78	V	48	16	2	31,29	8,83	0,38	3,84	13,69
79	V	49	31	2	13,08	3,82	0,80	1,81	4,53
80	V	49	75	2	23,70	7,98	0,89	6,59	11,59
81	V	51	108	6	16,35	6,04	0,88	1,62	7,44
82	V	51	118	10	4,64	3,24	0,84	1,27	3,46
83	V	52	41	0	22,68	4,83	-	2,79	6,42

TABLA VII (cont.)

Nºcasos	Sexo	Edad	CP	UP	COOH					INDICE
					8	7	6 %	5	4	
84	V	52	86	0	9,11	4,55	-	0,78	85,56	5,05
85	V	53	50	9	7,15	1,61	0,44	0,29	90,51	1,75
86	V	55	24	0	26,67	7,56	0,44	3,11	62,22	10,83
87	V	58	110	5	17,96	5,81	-	1,94	74,29	7,25
88	V	59	112	3	7,06	3,44	0,69	1,03	87,78	3,77
89	V	59	56	5	11,68	6,60	-	0,50	81,22	7,52
90	V	59	85	7	14,81	3,35	1,12	3,21	77,51	4,14
91	V	59	60	4	8,41	0,96	-	4,09	86,54	1,09
92	V	60	62	6	19,63	7,03	1,74	1,94	69,66	9,17
93	V	61	46	0	19,58	5,34	0,95	1,88	72,25	6,88
94	V	63	73	0	22,03	5,80	0,58	1,06	70,53	7,60
95	V	63	125	0	4,81	1,92	-	0,72	92,55	2,03
96	V	64	21	13	17,22	6,04	1,51	2,79	72,51	7,69
97	V	66	34	8	32,03	3,46	-	-	64,51	5,09
98	V	70	31	4	4,47	2,71	-	3,85	88,97	2,96
99	V	70	80	15	16,11	-	-	-	83,89	0,00
100	V	72	64	7	14,37	5,54	1,34	3,21	75,54	6,83

TABLA VII (cont.)

Necrosis	Sero	Edad	CP	UP	COOH				INDICE
					8	7	6 %	5	
101	V	74	88	14	6,56	1,99	1,59	3,38	86,48
102	V	80	77	3	26,49	10,78	1,30	1,69	59,74
103	V	80	25	3	13,66	3,73	1,24	0,62	80,75
104	M	2	26	3	7,22	5,16	0,74	1,33	85,55
105	M	2	18	0	7,31	3,11	-	2,09	87,49
106	M	3	29	8	23,70	5,41	0,20	-	70,69
107	M	4	44	3	5,62	1,39	-	2,89	90,10
108	M	5	37	2	9,81	2,75	1,07	1,44	84,93
109	M	6	15	4	5,99	5,52	0,37	1,56	86,56
110	M	6	19	3	21,92	3,62	-	2,07	72,39
111	M	7	81	1	24,32	7,20	1,77	1,77	65,22
112	M	7	36	2	10,50	10,63	4,22	5,51	69,14
113	M	7	32	2	2,75	1,30	-	2,02	93,93
114	M	7	49	2	21,52	3,10	0,31	1,54	73,53
115	M	8	13	0	29,93	5,16	2,64	2,64	59,63
116	M	8	65	2	2,21	-	-	-	97,79
117	M	9	28	0	3,20	2,85	1,07	9,25	83,63

TABLA VII (cont.)

Nuevas	Sexo	Edad	CP	UP	COOH				INDICE
					8	7	6 %	5	
118	M	9	101	7	7,48	4,03	0,11	2,07	86,31
119	M	9	13	6	22,32	3,37	1,25	0,74	72,32
120	M	9	18	0	24,32	8,40	1,43	1,42	64,43
121	M	10	29	3	16,81	6,17	1,03	1,37	74,62
122	M	10	41	3	27,13	5,94	-	1,24	65,69
123	M	10	42	0	7,64	2,79	-	2,05	87,52
124	M	11	23	3	15,99	5,88	2,11	4,38	71,64
125	M	11	123	15	19,37	5,93	3,26	2,27	69,17
126	M	12	66	4	11,94	3,36	1,90	2,48	80,29
127	M	13	22	5	11,48	3,67	2,07	11,00	71,78
128	M	13	45	3	21,83	4,37	0,87	1,31	71,62
129	M	14	93	7	3,50	-	0,53	1,40	94,57
130	M	14	76	11	15,73	5,64	2,48	5,58	70,57
131	M	14	73	2	13,13	-	-	-	86,87
132	M	14	30	8	22,75	6,22	1,31	4,26	65,46
133	M	15	53	2	20,15	9,35	0,70	0,35	69,46
134	M	15	47	10	22,73	5,13	0,59	3,37	68,18

TABLA VII (cont.)

Nº casos	Sexo	Edad	CP	UP	COCH				INDICE
					8	7	6 %	5	
135	M	16	24	0	11,78	5,58	-	-	6,32
136	M	16	41	4	21,84	5,65	0,74	3,42	7,63
137	M	17	47	12	20,19	2,17	-	-	2,72
138	M	17	36	2	6,26	1,33	-	0,38	1,42
139	M	18	59	2	4,54	2,20	-	2,49	2,38
140	M	18	38	2	6,35	1,59	-	1,36	1,72
141	M	19	49	4	16,11	6,49	0,93	4,63	8,29
142	M	20	51	0	-	-	-	-	0,00
143	M	20	21	0	7,57	0,95	-	-	1,02
144	M	21	55	5	14,29	6,39	0,43	4,97	9,08
145	M	21	37	5	19,63	6,58	1,20	1,32	8,45
146	M	21	29	3	13,54	4,14	-	0,83	4,83
147	M	22	34	3	15,64	5,16	-	0,29	6,14
148	M	23	108	2	19,40	8,94	2,47	5,36	12,29
149	M	23	49	6	18,67	7,81	0,57	4,38	10,22
150	M	23	28	2	8,47	4,46	-	0,89	4,92
151	M	23	34	0	7,89	1,97	0,33	0,99	2,17

TABLA VII (cont.)

Nº casos	Sexo	Edad	CP	UP	COOH				INDICE
					8	7	6 %	5	4
152	M	23	43	11	30,20	8,52	1,70	1,23	58,55
153	M	24	24	4	23,07	7,40	-	3,15	66,38
154	M	24	32	1	-	-	-	-	100,00
155	M	25	38	2	14,47	6,85	-	-	78,68
156	M	26	33	0	13,05	8,23	-	3,42	75,30
157	M	26	28	0	6,86	4,57	8,19	2,28	78,10
158	M	26	30	0	19,51	2,76	-	0,92	76,81
159	M	27	22	1	22,27	7,24	0,96	3,96	65,57
160	M	27	28	1	10,62	4,90	-	1,15	83,33
161	M	27	75	3	18,77	10,05	7,87	2,78	60,53
162	M	28	39	3	19,94	7,06	0,61	0,31	72,08
163	M	29	20	1	34,34	7,89	2,24	1,58	53,95
164	M	29	29	4	9,84	-	-	-	90,16
165	M	30	34	2	6,14	-	-	3,30	90,56
166	M	31	39	4	26,46	8,60	1,30	1,95	61,69
167	M	31	47	8	27,22	9,43	2,29	2,03	59,03
168	M	31	45	6	22,14	3,50	1,94	2,52	69,90

TABLA VII (cont.)

Nº casos	Sexo	Edad	CP	UP	COOH				INDICE
					8	7	6 %	5	
169	M	31	73	2	18,85	7,18	0,51	0,38	73,08
170	M	31	25	5	26,63	10,43	1,00	2,89	59,05
171	M	32	58	5	18,13	6,49	1,02	4,35	70,01
172	M	32	77	1	6,64	1,81	-	3,02	88,53
173	M	34	51	10	24,39	4,28	-	-	71,33
174	M	34	33	5	12,19	6,42	2,78	3,74	74,87
175	M	35	59	0	15,05	2,17	0,17	0,67	81,94
176	M	35	80	11	22,50	5,75	-	4,25	67,50
177	M	36	26	7	30,95	8,25	-	3,65	57,15
178	M	37	23	10	18,18	4,85	-	4,24	72,73
179	M	38	26	5	20,79	3,83	0,89	0,51	73,98
180	M	40	54	6	31,93	3,01	-	1,81	63,25
181	M	41	106	0	12,65	5,06	-	0,58	81,71
182	M	42	30	2	12,13	4,46	0,17	3,02	80,22
183	M	43	70	7	10,61	2,57	-	-	86,82
184	M	43	13	0	19,39	6,46	2,21	3,91	68,03
185	M	45	37	6	25,24	9,68	0,84	2,26	61,98

TABLA VII (cont.)

Necrosis	Sexo	Edad	CP	UP	COOH				INDICE
					8	7	6 %	5	4
186	M	45	36	0	33,54	8,05	2,40	3,58	52,43
187	M	46	40	0	24,15	2,44	2,11	2,44	68,86
188	M	46	59	0	25,98	4,60	0,80	-	68,62
189	M	47	49	0	24,96	4,35	1,05	3,22	66,42
190	M	48	56	5	13,87	1,50	-	0,80	83,83
191	M	49	37	0	20,12	7,45	1,84	5,72	64,87
192	M	50	17	0	25,46	6,47	1,08	2,27	64,72
193	M	52	21	5	27,40	6,69	2,53	1,51	61,87
194	M	53	79	0	33,78	5,74	1,01	3,38	56,09
195	M	54	51	2	5,66	-	-	-	94,34
196	M	55	64	0	8,43	1,33	0,44	1,04	88,76
197	M	55	53	5	14,16	-	-	-	85,84
198	M	56	104	0	18,11	8,32	-	4,25	69,32
199	M	56	15	3	18,79	4,80	-	1,25	75,16
200	M	56	78	5	12,54	8,47	-	-	78,99
201	M	56	25	0	27,04	6,80	2,42	0,30	63,44
202	M	58	34	4	22,74	10,55	1,27	5,08	60,36

TABLA VII (cont.)

Nº casos	Sexo	Edad	CP	UP	COOH				INDICE
					8	7	6 %	5	4
203	M	58	52	0	9,01	3,60	0,90	6,91	79,58
204	M	60	32	6	27,60	10,16	0,85	6,35	55,04
205	M	61	24	6	22,28	5,29	0,48	2,24	69,71
206	M	61	53	12	18,21	6,09	0,84	3,29	71,57
207	M	62	138	5	10,02	-	-	-	89,98
208	M	62	41	4	26,77	5,68	0,63	4,42	62,50
209	M	62	21	0	7,61	4,66	-	6,21	81,21
210	M	62	22	0	30,45	0,79	-	-	68,76
211	M	62	44	0	7,24	4,43	0,59	2,07	85,67
212	M	63	29	2	15,86	2,43	-	0,80	80,91
213	M	65	17	2	14,15	3,20	0,12	2,11	80,42
214	M	65	33	9	17,26	3,21	-	-	79,23
215	M	69	23	0	32,34	6,94	-	3,84	56,88
216	M	70	51	5	27,25	4,63	1,28	2,57	64,27
217	M	72	31	5	13,98	2,14	0,14	1,00	82,74
218	M	73	15	1	18,70	7,63	1,65	5,86	66,16
219	M	80	9	15	2,71	-	-	-	97,29

TABLA VIII

EXCRECION CUANTITATIVA Y REPARTO PORCENTUAL DE PORFIRINAS FECALES EN PRESUNTOS NORMALES. Fracciones
COPROPORFIRINA (CP), PROTOPORFIRINA (PP) y reparto porcentual de las porfirinas OCTO, HEPTA, HEXA, -
PENTA, TETRA Y DICARBOXILICAS Y P₁.

Nºcasos	Sexo	Edad	CP µg/g seco 23	PP 28	COOH							INDICE
					8	7	6	5 %	P ₁	4	2	
1	V	5			0,22	0,15	-	2,23	-	37,42	59,98	0,40
2	V	5	5	19	0,34	0,38	-	-	-	29,16	70,12	1,29
3	V	6	3	25	0,83	-	-	0,45	-	15,00	83,72	0,00
4	V	7	5	42	2,25	-	1,04	3,43	-	17,26	76,02	0,00
5	V	8	10	44	1,67	0,41	1,67	2,18	0,50	39,06	54,51	2,28
6	V	8	9	28	0,54	0,21	1,18	2,46	-	12,85	82,76	1,61
7	V	8	7	45	0,67	-	0,47	2,03	-	19,63	77,20	0,00
8	V	9	3	3	1,79	0,38	-	2,27	-	31,42	64,14	1,19
9	V	9	7	10	3,64	0,45	2,68	6,28	-	38,66	48,29	1,15
10	V	9	2	10	1,66	-	1,27	0,73	-	38,52	57,82	0,00
11	V	10	7	55	0,37	-	-	1,91	-	24,23	73,49	0,00
12	V	11	26	118	0,30	-	-	0,31	-	5,51	93,88	0,00
13	V	12	4	21	0,44	0,13	1,16	7,71	-	26,73	63,83	0,48
14	V	13	11	33	-	0,22	-	0,76	-	19,50	79,52	1,12

b
p

TABLA VIII (cont.)

Casos	Sexo	Edad	CP 10	PP 44	COOH					INDICE		
					8	7	6	5 %	P ₁	4	2	
15	V	13			-	-	-	2,14	-	20,32	77,54	0,00
16	V	14	17	35	0,86	0,81	1,78	1,62	-	19,42	75,51	4,00
17	V	15	3	13	-	-	0,98	2,13	-	31,89	65,00	0,00
18	V	16	3	11	2,44	-	-	2,30	-	28,44	66,82	0,00
19	V	16	3	18	-	-	-	1,45	-	16,71	81,84	0,00
20	V	16	3	17	-	-	-	1,18	-	13,77	85,08	0,00
21	V	17	26	90	0,57	0,32	0,28	-	-	16,98	81,85	1,85
22	V	18	4	10	1,02	0,22	0,75	0,30	-	26,58	70,83	0,81
23	V	19	15	43	-	-	0,86	-	-	13,10	86,04	0,00
24	V	20	3	6	5,40	0,45	-	3,37	-	25,18	65,60	1,76
25	V	20	8	51	-	-	0,45	0,52	-	22,83	76,20	0,00
26	V	22	6	21	-	-	0,50	6,55	-	22,67	70,28	0,00
27	V	23	9	21	3,97	0,45	0,49	1,42	0,37	31,88	61,42	2,51
28	V	24	6	29	3,43	0,06	1,14	5,85	-	17,80	71,72	0,33
29	V	24	15	58	-	-	-	-	-	11,35	88,65	0,00
30	V	25	2	15	0,74	-	0,46	0,28	-	26,51	72,01	0,00
31	V	25	7	17	-	-	-	-	-	26,49	73,51	0,00

TABLA VIII (cont.)

COOH

Nºcasos	Sexo	Edad	CP mg/g seco	PP 17	8	7	6	5 %	P ₁	4	2	INDICE
32	V	25	8	17	-	-	-	-	0,85	23,50	76,65	0,00
33	V	25	7	38	2,46	0,30	1,19	7,00	-	24,59	64,46	1,20
34	V	26	5	34	4,22	0,32	0,46	2,99	-	10,40	81,61	2,98
35	V	27	13	32	0,75	-	0,89	1,71	-	20,04	76,61	0,00
36	V	27	5	13	-	-	-	-	-	14,58	85,42	0,00
37	V	28	8	36	3,00	0,16	0,93	4,99	-	8,72	82,20	1,80
38	V	28	12	36	-	-	-	1,12	-	9,85	89,03	0,00
39	V	29	7	50	-	-	-	0,65	-	14,91	84,44	0,00
40	V	30	6	20	2,48	-	0,18	4,39	-	18,59	74,36	0,00
41	V	31	8	55	-	0,84	3,05	4,64	-	39,64	51,83	2,08
42	V	32	24	83	-	-	0,23	0,19	-	13,21	86,37	0,00
43	V	32	6	32	-	-	-	-	-	22,07	77,93	0,00
44	V	33	11	21	-	-	-	2,39	-	33,76	63,85	0,00
45	V	34	5	28	0,28	-	0,65	0,84	-	20,50	77,73	0,00
46	V	35	4	5	0,83	-	-	4,18	-	18,07	76,92	0,00
47	V	36	23	79	0,14	0,35	0,38	1,15	-	15,63	82,35	2,19
48	V	36	7	10	-	0,06	0,09	0,19	-	14,04	85,62	0,43

TABLA VIII (cont.)

Números	Sexo	Edad	CP mg/g seco 12 83	PP	COOH					INDICE	
					8	7	6	5 %	P ₁	4	2
49	V	36			0,54	0,14	-	1,15	-	14,92	83,25
50	V	37	3	3	1,03	0,58	1,36	-	-	27,15	69,88
51	V	37	5	4	1,74	1,06	1,93	3,57	-	27,99	63,71
52	V	37	20	64	-	-	2,51	3,43	-	8,17	85,89
53	V	37	6	2	-	-	-	-	-	21,34	78,66
54	V	38	3	6	1,49	1,41	0,85	-	-	26,89	69,36
55	V	42	2	5	0,52	0,27	-	1,59	-	33,79	63,83
56	V	42	18	24	3,24	0,16	-	2,69	0,34	39,62	53,95
57	V	43	5	14	1,22	0,05	-	0,12	-	32,39	66,22
58	V	44	13	27	1,06	0,39	1,06	3,82	-	29,49	64,18
59	V	46	23	68	2,57	0,56	0,46	2,05	-	18,32	76,04
60	V	48	10	22	0,42	0,47	-	1,58	-	13,71	83,82
61	V	48	9	115	0,37	0,15	-	0,40	0,88	14,51	83,69
62	V	49	9	29	1,53	0,09	0,44	0,91	-	16,27	80,76
63	V	50	1	15	-	-	-	0,33	-	9,31	90,36
64	V	50	4	36	0,68	-	0,16	0,55	-	12,97	85,64
65	V	51	30	92	1,17	-	0,56	0,53	0,28	26,13	71,33
											1,06

TABLA VIII (cont.)

Nuevas	Sexo	Edad	CP Pg/s sexo	PP 7 24	COOH							
					8	7	6	5 %	P ₁	4	2 INDICE	
66	V	51			1,36	0,62	3,23	4,14	-	28,56	62,09	2,12
67	V	51	2	5	1,40	1,93	0,64	0,73	-	27,93	67,37	6,46
68	V	52	8	33	2,42	0,53	0,29	0,59	-	29,50	66,67	1,76
69	V	52	11	35	1,06	-	-	0,60	-	24,82	73,82	0,00
70	V	54	9	6	0,45	-	-	-	-	27,49	72,06	0,00
71	V	58	22	57	-	-	-	-	-	10,92	89,08	0,00
72	V	59	27	29	0,88	0,30	0,68	-	-	7,61	90,53	3,79
73	V	59	3	16	0,64	-	-	0,90	-	38,59	59,87	0,00
74	V	59	24	65	-	0,22	-	0,16	-	20,41	79,21	1,07
75	V	59	59	83	-	-	1,40	3,07	-	33,62	61,91	0,00
76	V	63	3	17	-	-	0,62	0,57	-	18,05	80,76	0,00
77	V	64	10	27	0,18	0,25	-	1,33	-	12,62	85,62	1,94
78	V	67	8	96	0,29	0,06	0,38	2,01	-	14,59	82,67	0,41
79	V	70	4	46	2,85	0,10	0,35	-	-	13,22	83,48	0,75
80	V	70	13	5	-	-	2,16	0,79	-	30,33	66,72	0,00
81	V	72	2	13	1,98	0,80	1,36	2,01	-	21,18	72,67	3,64
82	V	73	6	14	0,68	0,12	0,08	-	-	11,63	87,49	1,0"

TABLA VIII (cont.)

N ^o sos	Sexo	Edad	CP mg/g seco	PP 79	COOH					INDICE	
					8	7	6	5 %	P ₁	4	2
83	V	80	7	79	0,15	1,45	1,06	8,36	-	52,68	36,30
84	V	80	7	59	0,76	0,35	0,76	3,39	-	27,49	67,25
85	M	2	4	24	0,86	-	0,79	1,12	-	39,55	57,68
86	M	2	2	6	0,93	0,39	0,51	1,44	-	26,99	69,74
87	M	3	3	48	1,41	-	-	0,29	-	14,95	83,35
88	M	4	2	16	1,31	-	-	0,45	-	11,76	86,48
89	M	4	8	32	-	-	-	-	-	16,94	83,06
90	M	5	1	6	0,44	0,50	0,13	1,75	-	22,17	75,01
91	M	6	1	19	3,23	0,79	-	0,47	-	31,86	63,65
92	M	6	9	40	1,90	-	1,24	2,90	-	30,96	63,00
93	M	7	5	17	-	-	1,20	2,06	-	21,29	75,45
94	M	7	1	17	0,40	0,51	0,43	1,47	-	18,74	78,45
95	M	7	5	16	0,62	0,31	1,01	2,01	-	37,15	58,90
96	M	9	1	5	0,45	0,28	0,28	3,24	-	24,79	70,96
97	M	9	6	81	0,77	0,33	-	2,13	-	15,41	81,36
98	M	9	4	37	0,82	0,51	-	1,08	-	32,89	64,70
99	M	10	6	4	-	-	3,53	6,61	-	36,41	53,45

TABLA VIII (cont.)

Nº caso	Sexo	Edad	CP Pg/s	PP seco	COOH					INDICE	
					8	7	6	5 %	P ₁	4	2
100	M	10	7	24	0,72	-	-	0,46	-	20,33	28,49
101	M	11	6	35	0,11	-	1,00	1,65	-	16,51	80,73
102	M	11	3	12	1,01	-	1,83	3,88	-	27,25	66,03
103	M	11	14	25	-	-	0,46	0,60	-	23,49	75,45
104	M	12	5	6	-	0,42	-	-	-	37,02	62,56
105	M	13	15	24	-	-	1,59	0,77	-	15,93	81,71
106	M	13	3	7	0,66	0,46	-	1,50	-	20,62	76,76
107	M	15	44	60	0,28	0,10	-	0,48	-	17,26	81,88
108	M	18	8	18	3,57	0,63	1,22	0,47	-	15,41	78,70
109	M	19	9	19	-	0,22	-	0,57	0,86	34,69	63,66
110	M	19	8	24	-	-	-	2,09	-	11,52	86,39
111	M	21	8	17	2,11	0,40	0,96	5,65	-	21,48	69,40
112	M	21	4	28	3,24	-	1,90	6,48	-	9,35	79,03
113	M	22	2	8	-	-	0,14	0,61	-	19,41	79,84
114	M	23	6	36	0,31	-	0,37	0,82	-	26,90	71,60
115	M	24	7	19	-	-	1,94	2,85	-	20,43	74,78
116	M	24	12	28	5,42	0,20	0,39	6,67	-	22,79	64,53

TABLA VIII (cont.)

Nº caso	Sexo	Edad	CP	PP	µg/g seco	COOH					INDICE	
						8	7	6	5	P ₁	4	2
117	M	25	8	43		1,97	0,52	0,21	-	-	15,68	81,62
118	M	26	6	26		0,43	0,43	-	2,45	-	12,27	84,42
119	M	27	4	32		1,62	-	0,27	4,25	-	12,83	81,03
120	M	28	24	86		-	-	-	-	-	19,09	80,91
121	M	29	2	6		0,68	0,47	0,88	2,70	-	27,43	67,57
122	M	29	12	21		0,47	0,29	0,62	2,10	-	23,93	72,59
123	M	30	26	56		6,50	-	-	-	-	28,87	69,63
124	M	30	16	85		0,97	0,28	0,36	0,69	-	16,23	81,47
125	M	31	28	65		0,24	-	-	0,49	-	27,78	71,49
126	M	31	4	10		0,62	0,11	-	3,18	-	37,48	58,61
127	M	32	7	15		4,48	1,77	0,87	5,31	-	27,69	59,88
128	M	34	8	29		2,52	1,80	1,32	0,72	0,30	18,00	75,34
129	M	34	13	45		0,32	0,58	1,52	4,05	-	27,28	66,25
130	M	34	7	18		-	-	-	1,69	-	29,92	61,39
131	M	34	11	14		-	-	-	-	-	46,06	53,84
132	M	35	13	26		0,07	-	0,10	0,18	-	19,40	80,25
133	M	38	6	25		-	-	2,14	1,19	-	13,74	82,80

TABLA VIII (cont.)

Neosos	Sexo	Edad	CP µg/g seco	PP 8	COOH								
					8	7	6	5 %	P ₁	4	2	INDICE	
134	M	38	5	12	0,14	0,28	1,50	6,46	-	-	40,73	50,89	0,68
135	M	41	17	12	-	-	-	0,87	-	-	24,97	74,16	0,00
136	M	41	11	61	0,38	-	-	0,19	-	-	24,46	74,97	0,00
137	M	42	2	12	0,34	-	0,77	2,14	-	-	19,30	77,45	0,00
138	M	42	7	11	9,08	1,33	3,37	0,26	-	-	35,97	49,99	3,57
139	M	45	12	29	-	-	0,27	0,46	-	-	31,55	67,72	0,00
140	M	45	10	22	1,22	0,26	-	0,42	-	-	26,98	71,12	0,95
141	M	46	4	12	-	-	-	0,36	-	-	26,93	72,71	0,00
142	M	48	2	28	0,43	0,20	-	1,66	-	-	18,33	79,38	1,08
143	M	49	15	10	0,81	0,10	0,10	0,24	1,19	17,86	79,70	6,73	
144	M	49	2	10	-	-	-	-	-	28,91	71,09	0,00	
145	M	50	3	17	1,49	0,46	1,03	1,49	-	32,93	62,60	1,38	
146	M	51	15	31	0,49	0,23	-	0,86	-	23,70	74,72	0,96	
147	M	52	16	31	0,67	0,61	-	1,21	-	24,83	72,68	2,40	
148	M	52	8	19	1,76	0,06	-	4,32	-	10,66	83,20	0,56	
149	M	52	6	14	-	-	0,77	0,87	-	17,09	81,27	0,00	
150	M	52	16	52	0,74	-	-	0,47	0,67	33,63	64,49	1,95	

TABLA VIII(cont.)

Nuevas	Sexo	Edad	CP kg/g seco 15	PP 38	COOH					INDICE	
					8	7	6	5 %	P ₁	4	2
151	M	54			0,17	-	1,79	2,77	-	41,59	53,68
152	M	55			1,84	-	0,85	1,08	-	33,74	62,49
153	M	56			0,85	-	0,20	0,65	-	21,58	76,72
154	M	56			-	0,12	-	-	-	11,99	87,89
155	M	58			0,44	-	-	1,04	-	27,81	70,71
156	M	58			4,69	-	2,28	-	-	22,86	70,17
157	M	58			1,78	0,44	2,43	5,21	-	36,74	53,40
158	M	59			-	-	-	-	-	23,97	76,03
159	M	60			0,69	0,65	0,95	1,74	-	27,27	68,70
160	M	60			0,93	0,35	-	2,32	-	29,02	67,38
161	M	61			-	-	0,29	0,88	-	35,27	63,56
162	M	61			0,83	0,52	1,15	4,85	-	38,13	54,52
163	M	63			0,43	0,99	2,15	5,74	-	24,54	66,15
164	M	64			6,27	1,45	-	0,39	-	23,66	68,23
165	M	64			-	-	1,21	-	-	15,46	83,33
166	M	64			1,08	0,11	4,39	-	-	41,88	52,54
167	M	65			0,80	0,24	0,31	1,01	-	10,42	87,22

TABLA VIII (cont.)

Nº caso	Sexo	Edad	CP pg/g seco 11	PP 46	8	7	6	COOH				INDICE
								5 %	P ₁	4	2	
168	M	65			-	-	0,93	1,91	-	22,42	74,74	0,00
169	M	69	4	28	0,98	-	0,39	2,74	-	25,63	70,26	0,00
170	M	70	4	21	0,14	-	0,38	1,51	-	22,02	75,95	0,00
171	M	72	5	12	0,77	-	1,66	1,71	-	22,63	73,23	0,00
172	M	72	6	20	0,71	-	-	0,21	-	19,11	79,97	0,00
173	M	73	7	7	2,25	0,24	0,69	2,00	-	41,44	53,38	0,58
174	M	76	7	3	-	-	-	0,67	-	24,97	74,36	0,00
175	M	80	27	20	-	-	-	0,58	-	25,87	73,55	0,00
176	M	80	17	47	-	-	1,61	2,42	-	12,07	83,90	0,00

TABLA IX

MEDIAS, VARIANZAS Y COEFICIENTES DE VARIACION PARA TODOS LOS FACTORES

A) - TODOS LOS CASOS

B) - VARONES

C) - MUJERES

	N	EDAD	COPRO	URO	PROTO	SCDH	7CDH	6CDH	SCDH	P1	4CDH	2CDH	INDICE
EN URINA													
MEDIA	200	35.64	51.00	3.97		15.32	4.48	0.84	2.25		76.77		5.84
DES. TIP. A)	103	33.23	50.27	4.53		13.57	4.17	0.83	2.27		79.19		5.30
DES. TIP. B)	118	36.11	51.07	3.48		16.87	4.76	0.85	2.26		74.63		6.31
DES. TIP. C)		19.98	27.50	3.68		8.15	2.82	1.20	2.06		11.70		4.02
DES. TIP. A)		19.87	28.14	3.86		7.37	2.79	1.08	2.11		10.58		3.94
DES. TIP. B)		20.15	24.43	3.46		8.51	2.83	1.30	2.04		12.27		4.05
DES. TIP. C)		0.61	0.34	0.93		0.53	0.43	1.43	0.71		0.15		0.69
CUEF. VAR. A)		0.40	0.47	0.85		0.54	0.67	1.31	0.73		0.13		0.74
CUEF. VAR. B)		0.43	0.37	1.00		0.50	0.60	1.23	0.77		0.16		0.64
CUEF. T. B1-C)		0.41	4.76	2.14		3.05	1.57	0.14	0.04		2.93		1.87
EN MESES													
MEDIA	178	35.52	9.29		30.83	1.01	0.23	0.62	1.74	0.03	23.52	72.51	0.97
DES. TIP. A)	95	34.42	9.23		34.37	0.99	0.22	0.57	1.73	0.03	22.30	73.43	0.98
DES. TIP. B)	91	36.34	8.79		27.57	1.03	0.23	0.57	1.73	0.03	24.65	71.66	0.96
DES. TIP. A)		21.28	8.00		23.77	1.42	0.36	0.82	1.85	0.12	9.01	10.94	1.59
DES. TIP. B)		19.93	8.02		27.07	1.19	0.36	0.75	1.85	0.12	9.34	12.19	1.45
DES. TIP. C)		22.51	7.17		19.87	1.61	0.37	0.89	1.75	0.17	8.58	9.63	1.65
CUEF. VAR. A)		0.40	0.86		0.77	1.40	1.62	1.33	1.07	0.09	0.38	0.15	1.60
CUEF. VAR. B)		0.38	0.90		0.79	1.21	1.41	1.32	1.13	0.10	0.42	0.17	1.47
CUEF. T. B1-C)		0.42	0.32		0.72	1.52	1.44	1.33	1.04	0.12	0.35	0.13	1.71
CUEF. T. B1-C)		0.46	0.66		1.90	0.22	0.08	0.81	0.33	0.24	1.73	1.07	0.10

TABLA X

MEDIAS, VARIANZAS Y COEFICIENTES DE VARIACION PARA TODOS LOS FACTORES, AGRUPADOS DE 10 EN 10 AÑOS

A) - TODOS LOS CASOS

B) - VARONES

C) - MUJERES

EDADES DE 1 A 10 EN URINA	N	EDAD	COPRO	URO	PROTO	SCODM	6CODM	7CODM	8CODM	9CODM	5CODM	P1	4CODM	2CODM	INDICE
MEDIA	36	7-14	41.36	3.14	14.07	4.19	0.08	2.12	77.99	5.30					
DES. TIP.	16	7-14	47.06	3.88	15.84	3.93	0.97	2.09	77.18	4.98					
DES. TIP.	20	6-90	36.80	2.55	14.08	4.39	0.81	2.15	78.57	5.35					
COEF. VAR.	20	2-34	25.71	2.52	7.88	2.25	0.72	1.63	9.35	3.10					
COEF. VAR.	20	2-37	26.26	2.66	5.75	1.89	0.67	1.22	7.00	2.67					
COEF. VAR.	20	2-37	23.04	2.31	9.32	2.54	1.09	2.02	11.02	3.46					
COEF. T B1-C1	20	0-33	0.50	0.80	0.53	0.54	1.04	0.80	0.12	0.59					
COEF. T B1-C1	20	0-28	0.56	0.69	0.36	0.48	0.69	0.59	0.09	0.34					
COEF. T B1-C1	20	0-37	0.63	0.90	0.66	0.58	1.34	0.74	0.14	0.62					
COEF. T B1-C1	20	0-68	1.25	1.60	0.66	0.61	0.50	0.11	0.44	0.35					
LM HLCEs															
MEDIA	27	6-01	5.41	25.96	1.03	0.21	0.65	1.01	0.02	26.13	70.07	0.82			
DES. TIP.	11	7-64	7.36	29.09	1.27	0.18	0.76	1.19	0.05	27.56	68.00	0.72			
DES. TIP.	16	6-25	4.06	24.50	0.87	0.23	0.57	1.72	0.00	25.14	71.48	0.89			
COEF. VAR.	16	2-42	5.42	18.49	0.92	0.23	0.69	1.42	0.10	9.28	10.85	0.93			
COEF. VAR.	16	1-67	5.77	16.93	1.05	0.19	0.89	1.61	0.15	10.22	11.84	0.82			
COEF. VAR.	16	2-72	2.64	19.95	0.82	0.26	0.91	1.51	0.00	8.77	10.26	1.02			
COEF. T B1-C1	16	0-35	0.82	0.71	0.90	1.12	1.38	0.84	5.20	0.36	0.19	1.13			
COEF. T B1-C1	16	0-22	0.78	0.60	0.83	1.07	1.18	0.77	3.32	0.37	0.17	1.13			
COEF. T B1-C1	16	0-44	0.63	0.81	0.95	1.15	1.60	0.73	0.00	0.35	0.14	1.14			
COEF. T B1-C1	16	1-50	2.01	0.49	1.12	0.50	0.52	0.72	1.22	0.66	0.81	0.47			
EDADES DE 11 A 20 EN URINA	N	EDAD	COPRO	URO	PROTO	SCODM	6CODM	7CODM	8CODM	9CODM	5CODM	P1	4CODM	2CODM	INDICE
MEDIA	36	15-01	51.42	4.86	14.10	4.18	1.10	2.01	77.71	5.42					
DES. TIP.	16	15-04	52.13	4.94	14.65	4.69	1.38	3.49	75.79	6.18					
DES. TIP.	20	15-25	50.85	4.80	13.66	3.78	0.87	2.43	79.25	4.81					
COEF. VAR.	20	2-59	27.90	4.10	7.09	2.71	1.30	2.09	11.35	3.76					
COEF. VAR.	20	2-41	31.22	3.96	7.26	2.80	1.59	3.28	11.98	4.09					
COEF. VAR.	20	2-76	23.76	4.31	7.11	2.66	1.00	2.70	10.87	3.49					
COEF. T B1-C1	20	0-17	0.54	0.84	0.50	0.65	1.18	1.02	0.15	0.69					
COEF. T B1-C1	20	0-15	0.60	0.80	0.50	0.60	1.15	0.94	0.16	0.65					
COEF. T B1-C1	20	0-18	0.51	0.90	0.52	0.70	1.14	1.11	0.14	0.72					
COEF. T B1-C1	20	0-67	0.13	0.10	0.41	1.01	1.16	1.07	0.91	1.09					
EN HLCEs															
MEDIA	24	15-08	10.46	30.83	0.69	0.17	0.51	1.43	0.04	21.12	75.98	0.87			
DES. TIP.	14	15-71	9.71	36.43	0.77	0.15	0.48	1.73	0.00	20.52	76.40	0.72			
DES. TIP.	10	14-20	11.50	23.00	0.56	0.19	0.61	1.23	0.09	21.97	75.39	1.08			
COEF. VAR.	10	3-11	8.69	17.11	1.32	0.23	0.67	2.06	0.00	7.09	9.08	1.58			
COEF. VAR.	10	3-33	12.12	15.73	1.11	0.24	0.57	1.13	0.27	8.97	8.40	1.46			
COEF. VAR.	10	0-21	0.75	0.89	1.81	1.21	1.28	1.13	0.00	0.35	0.11	1.47			
COEF. T B1-C1	10	0-10	0.86	0.89	1.89	1.56	1.28	1.13	0.00	0.35	0.12	1.62			
COEF. T B1-C1	10	0-23	1.03	0.98	1.97	1.30	1.20	0.75	1.16	0.39	0.11	1.35			
COEF. T B1-C1	10	1-19	0.43	1.21	0.40	0.30	0.61	0.71	1.19	0.43	0.28	0.69			

TABLA X (cont.)

MECIAS, VARIANZAS Y COEFICIENTES DE VARIACION PARA TODOS LOS FACTORES, AGRUPADOS DE 10 EN 10 ANOS

A) - TODOS LOS CASOS

B) - HOMBRES

C) - MUJERES

EDADES DE 31 A 40	N	EDAD	COPPO	URO	PROTO	SCODH	TCODH	SCODH	P1	4CODH	2CODH	INDICE
EN URINA												
MEDIA	42	35.02	50.45	3.26	13.70	4.41	1.06	2.11	0.04	78.81	78.81	3.72
DESV.	20	23.13	33.50	3.90	10.31	3.21	0.91	1.27	0.06	92.02	92.02	7.03
COEF. T. A)	22	2.91	18.52	2.68	16.21	3.20	1.24	1.04	0.00	12.48	12.48	1.23
DESV. TIP. A)		2.90	21.52	3.16	7.12	3.09	1.74	1.43	0.23	11.03	11.03	3.39
COEF. VAR. A)		3.12	17.69	2.55	6.18	2.81	2.33	1.89	0.00	11.03	11.03	4.10
COEF. T. B)		0.12	0.57	0.97	0.57	0.70	1.82	1.07	0.12	0.12	0.12	0.77
DESV. TIP. B)		0.12	0.34	0.99	0.57	0.54	1.63	0.85	0.14	0.14	0.14	0.77
COEF. VAR. B)		0.11	0.51	0.75	0.50	0.54	1.63	0.85	0.14	0.14	0.14	0.77
COEF. T. C)		0.27	3.91	1.25	2.20	2.54	0.53	0.45	1.30	0.40	0.40	2.59
EN HICES												
MEDIA	29	25.76	8.72	32.00	1.65	0.13	0.49	2.47	0.04	19.26	76.23	0.59
DESV.	13	23.07	7.73	24.13	1.60	0.09	0.37	2.15	0.06	18.76	76.23	0.31
COEF. T. A)	14	2.73	3.77	3.67	1.89	0.18	0.37	2.15	0.00	18.76	76.23	0.89
DESV. TIP. A)		2.68	3.57	3.56	1.82	0.18	0.34	2.43	0.17	9.48	7.33	1.03
COEF. VAR. A)		3.23	7.57	3.02	2.03	0.13	0.44	2.43	0.23	5.09	8.33	0.77
COEF. T. B)		0.11	0.66	0.61	1.11	1.11	1.11	1.07	0.00	0.34	0.34	1.50
DESV. TIP. B)		0.09	0.74	0.71	1.01	1.24	1.09	1.05	0.04	0.34	0.34	1.72
COEF. VAR. B)		0.13	0.77	0.71	1.12	1.12	1.12	0.99	0.00	0.30	0.30	1.32
COEF. T. C)		0.22	0.99	0.81	0.13	1.46	0.78	0.95	1.30	0.40	0.40	1.59
EDADES DE 41 A 40	N	EDAD	COPPO	URO	PROTO	SCODH	TCODH	SCODH	P1	4CODH	2CODH	INDICE
EN URINA												
MEDIA	31	34.74	58.26	3.03	15.73	4.66	0.69	2.15	0.04	76.73	76.73	6.06
DESV.	16	33.56	56.13	4.44	10.37	3.96	0.90	1.31	0.06	83.42	83.42	7.80
COEF. T. A)	15	2.71	26.89	3.36	8.43	2.83	0.93	1.39	0.23	69.60	69.60	1.07
DESV. TIP. A)		2.68	29.03	3.86	3.90	2.70	0.93	1.59	0.00	11.04	11.04	3.64
COEF. VAR. A)		2.92	19.26	3.22	6.32	2.66	0.93	1.39	0.15	8.11	8.11	0.67
COEF. T. B)		0.06	0.43	0.87	0.37	0.91	1.34	0.74	0.11	0.11	0.11	0.79
DESV. TIP. B)		0.07	0.40	0.87	0.37	0.74	1.17	0.63	0.11	0.11	0.11	0.79
COEF. VAR. B)		1.01	2.29	0.96	4.81	2.14	0.54	0.82	0.30	0.30	0.30	2.59
EN HICES												
MEDIA	24	31.07	9.79	30.43	0.59	0.37	0.77	1.87	0.01	21.47	71.42	1.47
DESV.	14	30.07	9.79	24.93	0.59	0.32	0.74	1.31	0.03	21.47	71.42	1.13
COEF. T. A)	10	2.19	10.20	2.68	0.84	0.45	0.74	2.31	0.03	28.81	66.08	1.93
DESV. TIP. A)		2.17	7.04	3.21	1.06	0.56	0.93	1.78	0.04	9.44	11.31	2.92
COEF. VAR. A)		2.47	7.00	17.63	0.51	0.47	1.03	1.78	0.00	8.66	10.23	1.52
COEF. T. B)		0.07	0.71	0.89	1.76	1.53	0.82	2.29	0.09	10.29	11.00	1.93
DESV. TIP. B)		0.07	0.71	0.89	1.76	1.53	0.82	2.29	0.09	10.29	11.00	1.93
COEF. VAR. B)		0.07	0.71	0.89	1.76	1.53	0.82	2.29	0.09	10.29	11.00	1.93
COEF. T. C)		0.07	0.71	0.89	1.76	1.53	0.82	2.29	0.09	10.29	11.00	1.93
COEF. T. D)		1.00	0.14	0.73	0.73	0.96	0.11	0.93	1.10	1.04	2.09	0.78

TABLA X (cont.)

MEAS, VARIANZAS Y COEFICIENTES DE VARIACION PARA TODOS LOS FACTORES, AGRUPADOS DE 10 EN 10 ANOS

AI - TODOS LOS CASOS

DI - VARONES

CI - MUJERES

EDADES DE 41 A 50	M	LOAD	COPPO	URO	PROTO	SCODH	7CDOH	6CDOH	5CDOH	P1	4CDOH	2CDOH	INDICE
EN ORINA													
MEDIA	24	45.38	50.17	3.13	17.88	5.39	0.77	2.26	2.26	0.07	24.22	69.97	1.13
DES. TIP. AI	12	45.33	54.50	4.58	19.08	5.51	0.50	2.20	2.20	0.03	22.04	68.84	1.61
DES. TIP. CI	12	45.42	45.93	1.67	20.67	5.26	1.04	2.32	2.32	0.11	26.20	70.99	0.68
DES. TIP. AI	12	2.03	22.93	3.76	8.49	3.28	0.82	1.91	1.91	0.27	8.60	14.56	1.69
DES. TIP. CI	12	2.76	20.69	4.19	9.12	4.06	0.64	2.15	2.15	0.11	10.68	19.66	2.12
CUF. VAR. AI	2	2.01	25.11	2.71	7.10	2.45	0.91	1.73	1.73	0.36	6.01	8.60	1.09
CUF. VAR. CI	2	0.06	0.46	1.20	0.47	0.61	1.06	0.89	0.89	0.17	0.16	0.16	0.68
CUF. T AI-CI	0.07	0.38	0.91	0.60	0.74	1.28	0.76	0.17	0.17	0.42	0.17	0.17	0.82
CUF. T AI-CI	0.06	0.55	1.62	0.34	0.47	0.87	0.75	0.15	0.15	0.53	0.15	0.15	0.93
CUF. T AI-CI	0.07	0.22	2.03	1.68	0.19	1.64	0.19	0.19	0.19	0.03	1.23	0.03	0.03
EN HUES													
MEDIA	21	45.71	0.52	27.57	1.21	0.21	0.36	1.05	1.05	0.07	24.22	69.97	1.13
DES. TIP. AI	10	46.20	9.40	35.50	1.16	0.21	0.21	1.67	1.67	0.03	22.04	68.84	1.61
DES. TIP. CI	11	45.27	7.73	20.36	1.25	0.21	0.50	0.74	0.74	0.11	26.20	70.99	0.68
DES. TIP. AI	11	3.27	6.20	25.62	2.00	0.31	0.77	1.03	1.03	0.27	8.60	14.56	1.69
DES. TIP. CI	11	3.22	7.04	32.69	1.03	0.20	0.35	1.13	1.13	0.11	10.68	19.66	2.12
CUF. VAR. AI	3	3.41	5.39	15.20	2.65	0.40	1.02	0.71	0.71	0.36	6.01	8.60	1.09
CUF. VAR. CI	3	0.07	0.73	0.93	1.65	1.46	2.11	0.75	0.75	3.66	0.36	0.21	1.50
CUF. T AI-CI	0.07	0.73	0.93	1.65	1.46	2.11	0.75	0.75	0.75	3.66	0.36	0.21	1.50
CUF. T AI-CI	0.08	0.72	0.75	0.92	0.89	0.93	1.65	0.89	0.89	3.14	0.46	0.29	1.32
CUF. T AI-CI	0.64	0.61	1.38	0.75	2.12	1.87	2.02	0.77	0.77	3.32	0.23	0.12	1.59
CUF. T AI-CI	0.64	0.61	1.38	0.75	2.12	1.87	2.02	0.77	0.77	3.32	0.23	0.12	1.59
EDADES DE 51 A 60	M	EDAD	COPPO	URO	PROTO	SCODH	7CDOH	6CDOH	5CDOH	P1	4CDOH	2CDOH	INDICE
EN ORINA													
MEDIA	25	55.60	61.40	3.40	15.68	4.87	0.62	2.11	2.11	0.04	25.54	71.30	1.00
DES. TIP. AI	12	55.67	76.00	4.58	13.65	4.58	0.51	2.34	2.34	0.03	25.54	71.30	1.00
DES. TIP. CI	13	55.54	47.92	2.31	17.37	5.13	0.72	2.34	2.34	0.03	25.54	71.30	1.00
DES. TIP. AI	13	3.08	32.27	3.08	8.70	3.07	0.75	1.77	1.77	0.14	8.83	10.09	1.53
DES. TIP. CI	13	3.65	31.49	3.37	6.96	2.12	0.56	1.23	1.23	0.08	9.11	10.42	2.05
CUF. VAR. AI	2	2.60	27.68	2.43	10.02	3.82	0.90	2.51	2.51	0.18	8.93	10.16	0.87
CUF. VAR. CI	2	0.06	0.53	0.91	0.55	0.63	1.21	0.64	0.64	3.76	0.35	0.14	1.54
CUF. T AI-CI	0.07	0.41	0.74	0.50	0.50	0.46	1.10	0.64	0.64	3.76	0.35	0.14	1.54
CUF. T AI-CI	0.05	0.58	1.05	0.58	0.58	0.74	1.25	1.05	1.05	3.76	0.35	0.14	1.54
CUF. T AI-CI	0.10	2.37	1.75	1.01	0.44	0.44	0.70	0.42	0.42	0.34	0.24	0.14	1.42
EN HUES													
MEDIA	25	55.48	14.52	39.52	0.76	0.23	0.64	1.37	1.37	0.04	25.54	71.30	1.00
DES. TIP. AI	11	55.00	18.36	40.45	0.65	0.33	0.64	1.37	1.37	0.03	25.54	71.30	1.00
DES. TIP. CI	14	55.06	11.50	38.79	1.04	0.16	0.66	1.55	1.55	0.03	25.54	71.30	1.00
DES. TIP. AI	14	3.13	12.20	24.66	1.03	0.42	0.91	1.57	1.57	0.14	8.83	10.09	1.53
DES. TIP. CI	14	3.74	16.70	29.79	0.74	0.58	0.97	1.35	1.35	0.08	9.11	10.42	2.05
CUF. VAR. AI	3	3.06	6.15	20.50	1.23	0.24	0.90	1.67	1.67	0.18	8.93	10.16	0.87
CUF. VAR. CI	3	0.06	0.84	0.62	1.08	1.81	1.42	1.16	1.16	3.76	0.35	0.14	1.54
CUF. T AI-CI	0.07	0.51	0.74	0.74	0.87	1.77	1.57	1.39	1.39	3.76	0.35	0.14	1.54
CUF. T AI-CI	0.05	0.53	0.53	0.53	1.19	1.53	1.35	1.04	1.04	3.76	0.35	0.14	1.54
CUF. T AI-CI	0.05	1.43	0.17	0.17	0.44	0.08	0.12	0.59	0.59	0.34	0.24	0.14	1.42

TABLA X (Cont.)

MEAS, VARIANZAS Y COEFICIENTES DE VARIACION PARA TODOS LOS FACTORES, AGUPADOS DE 10 EN 10 ANOS

AJ - TODOS LOS CASOS

BI - VARNES

CJ - MUJERES

EDADES DE 01 A 99	N	EDAD	CEPRO	UNO	PROTO	9COOH	7COOH	6COOH	5COOH	P1	4COOH	2COOH	INDICE
EN ORINA													
MEDIA	26	67.46	46.73	5.12	17.04	4.02	0.39	0.39	2.09		76.36		5.26
DES. TIP.	11	69.55	60.36	6.09	16.12	4.30	0.77	0.77	1.79		77.07		5.35
CUEF. VAR.	15	65.93	36.73	4.40	17.72	3.81	0.38	0.38	2.29		75.84		5.05
CUEF. T BI-CJ		6.40	31.00	5.07	8.64	2.57	0.61	0.61	1.91		10.68		3.68
		7.02	32.16	5.74	8.79	2.88	0.67	0.67	1.39		11.23		4.11
		5.65	30.88	4.60	8.78	2.40	0.53	0.53	2.09		11.23		3.46
		0.09	0.71	0.99	0.51	0.64	1.12	0.89	0.77		0.14		0.70
		0.10	0.53	0.94	0.55	0.67	0.87	0.87	0.77		0.13		0.74
		0.09	0.94	1.04	0.50	0.63	1.38	0.71	0.71		0.13		0.68
		1.45	1.99	0.84	0.46	0.48	1.67	0.75	0.75		0.28		0.34
EN HECE	25	69.76	7.80		29.20	0.89	0.27	0.88	1.43	0.00	24.29	71.91	1.03
DES. TIP.	9	71.22	6.67		39.56	0.77	0.35	0.75	2.05	0.00	22.42	73.66	1.30
CUEF. VAR.	16	68.94	8.44		23.38	0.89	0.22	0.95	1.65	0.00	25.34	70.93	0.88
CUEF. T BI-CJ		6.67	5.37		24.75	1.36	0.44	0.99	2.07	0.00	10.79	12.62	1.34
		6.50	3.46		32.37	1.00	0.48	0.69	2.41	0.00	13.19	16.00	1.24
		6.84	6.48		17.91	1.56	0.42	1.14	1.65	0.00	9.23	10.75	1.70
		0.10	0.71		0.69	1.61	1.65	1.13	1.11	0.00	0.44	0.19	1.49
		0.09	0.52		0.82	1.30	1.39	0.91	1.27	0.00	0.59	0.22	0.96
		0.10	0.77		0.77	1.75	1.91	1.20	1.03	0.00	0.38	0.15	1.93
		0.82	0.76		1.62	0.22	0.68	0.47	0.45	0.00	0.64	0.51	0.65

TABLA XI

COEFICIENTE T-STUDENT PARA TODOS LOS FACTORES Y PARA CADA PAO DE GRUPOS SEGUN EDAD

A) - TODOS LOS CASOS
B) - VARONES
C) - MUJERES

GRUPOS DE 1 A 10 Y DE 11 A 20											
EN ORINA											
EDAD	COPRO	UPE	PROTO	SCODM	7CODM	6CODM	5CODM	P1	4CODM	2CODM	INDICE
A) 14.56	1.62	2.15		0.43	0.01	0.32	1.37		0.10		0.19
B) 10.72	0.50	0.89		0.51	0.91	0.35	1.61		0.40		0.99
C) 10.02	1.82	2.06		0.16	0.76	0.19	0.38		0.20		0.67
EN HECE											
A) 10.67	2.40		0.76	1.06	0.64	0.50	0.89	0.44	2.09	2.13	0.19
B) 8.20	0.77		0.77	0.91	0.30	1.25	0.64	1.13	2.04	2.01	0.01
C) 6.66	2.39		0.20	0.80	0.43	0.12	0.89	1.28	0.90	1.01	0.39
GRUPOS DE 1 A 10 Y DE 21 A 30											
EN ORINA											
EDAD	COPRO	UPE	PROTO	SCODM	7CODM	6CODM	5CODM	P1	4CODM	2CODM	INDICE
A) 22.62	1.65	2.19		0.64	0.36	0.69	0.04		0.35		0.48
B) 19.33	2.06	0.02		2.40	0.87	0.10	0.27		1.76		0.50
C) 21.81	0.27	0.18		0.74	1.28	0.70	0.33		0.47		1.39
EN HECE											
A) 27.38	2.40		1.18	1.58	1.32	0.78	1.04	0.61	3.23	2.51	0.90
B) 22.47	0.21		0.18	0.59	1.40	1.29	0.32	0.45	2.59	2.23	1.31
C) 17.80	2.84		1.29	1.49	0.48	0.31	1.09	0.00	1.93	1.30	0.02
GRUPOS DE 1 A 10 Y DE 31 A 40											
EN ORINA											
EDAD	COPRO	UPE	PROTO	SCODM	7CODM	6CODM	5CODM	P1	4CODM	2CODM	INDICE
A) 44.73	2.70	2.94		0.44	0.77	0.33	0.09		0.49		0.87
B) 36.58	2.15	0.49		2.65	0.32	1.27	0.31		2.17		0.33
C) 28.94	1.49	3.34		2.39	1.51	0.35	0.40		2.60		1.80
EN HECE											
A) 41.57	2.80		0.70	1.55	1.38	0.49	0.06	0.26	0.55	0.44	1.29
B) 33.42	0.90		0.54	2.51	0.90	0.38	0.91	1.13	1.56	1.64	0.81
C) 26.28	3.19		0.13	0.06	1.15	0.49	0.80	1.25	0.97	1.27	1.13
GRUPOS DE 1 A 10 Y DE 41 A 50											
EN ORINA											
EDAD	COPRO	UPE	PROTO	SCODM	7CODM	6CODM	5CODM	P1	4CODM	2CODM	INDICE
A) 56.99	1.39	0.02		1.41	1.68	0.47	0.29		1.54		1.68
B) 39.93	0.81	0.55		0.27	1.39	1.86	0.17		0.13		1.37
C) 39.61	1.04	0.08		2.11	0.94	0.52	0.24		2.00		1.26
EN HECE											
A) 47.37	2.03		0.25	0.41	0.08	1.15	2.11	0.98	0.71	0.03	0.79
B) 34.81	0.73		0.66	0.24	0.40	1.40	1.21	0.20	1.21	0.12	1.29
C) 33.05	2.30		0.36	0.55	0.10	0.18	1.90	1.22	0.33	0.13	0.31

TABLA XI (Cont.)

COEFICIENTE T-STUDENT PARA TODOS LOS FACTORES Y PARA CADA PAR DE GRUPOS SEGUN EDAD

AI - TODOS LOS CASOS
BI - VARONES
CI - MUJERES

GRUPOS DE 1 A 10 Y DE 31 A 60		EDAD	COPRO	URO	PROTO	SCDOM	7CDOM	6CDOM	5CDOM	PI	4CDOM	2CDOM	INICE
EN DRENA													
EN HECES	A)	69.74	2.73	0.36		0.38	1.00	1.16	0.04		1.34		1.16
	B)	64.37	2.65	0.62		0.83	0.87	1.30	0.45		0.65		0.44
	C)	52.83	1.25	0.29		0.96	0.67	0.24	0.29		1.93		1.01
EN HECES													
EN HECES	A)	60.61	3.64		2.27	0.27	0.28	0.31	1.40	0.58	0.23	0.42	0.49
	B)	38.26	2.07		1.20	1.08	0.80	0.38	1.85	0.38	0.91	0.87	1.14
	C)	47.02	4.40		1.93	0.46	0.72	0.28	0.29	1.07	0.24	0.23	0.79
GRUPOS DE 1 A 10 Y DE 61 A 99		EDAD	COPRO	URO	PROTO	SCDOM	7CDOM	6CDOM	5CDOM	PI	4CDOM	2CDOM	INICE
EN DRENA													
EN HECES	A)	52.07	0.73	2.02		1.03	0.28	1.51	0.14		0.62		0.04
	B)	33.60	1.18	1.36		0.10	0.41	0.74	0.65		0.03		0.44
	C)	41.46	0.01	1.56		1.17	0.69	1.40	0.21		0.72		0.62
EN HECES													
EN HECES	A)	45.90	1.72		0.54	0.58	0.82	0.59	0.20	0.96	0.66	0.57	0.60
	B)	31.37	0.32		1.02	1.10	1.06	0.51	0.13	0.90	0.99	0.91	1.26
	C)	34.08	2.50		0.17	0.06	0.04	1.34	0.09	0.00	0.06	0.15	0.03
GRUPOS DE 11 A 20 Y DE 21 A 30		EDAD	COPRO	URO	PROTO	SCDOM	7CDOM	6CDOM	5CDOM	PI	4CDOM	2CDOM	INICE
EN DRENA													
EN HECES	A)	15.01	0.16	1.94		0.23	0.34	0.11	1.40		0.41		0.32
	B)	9.72	1.29	0.81		1.52	1.57	0.76	1.30		1.82		1.59
	C)	11.22	1.74	1.96		1.07	1.97	0.59	0.69		1.17		1.99
EN HECES													
EN HECES	A)	13.30	0.60		0.16	2.14	0.56	0.14	1.69	0.13	0.96	0.12	0.49
	B)	10.56	0.89		0.80	1.39	0.92	0.16	0.86	1.30	0.66	0.13	1.12
	C)	8.42	0.43		1.34	1.58	0.02	0.13	1.60	1.19	0.74	0.07	0.36
GRUPOS DE 11 A 20 Y DE 31 A 40		EDAD	COPRO	URO	PROTO	SCDOM	7CDOM	6CDOM	5CDOM	PI	4CDOM	2CDOM	INICE
EN DRENA													
EN HECES	A)	29.23	1.02	0.19		0.87	0.71	1.45	1.26		0.35		0.67
	B)	23.68	1.50	0.36		1.82	1.06	1.68	1.70		2.03		1.34
	C)	19.16	0.39	0.69		3.25	2.16	0.25	0.04		2.82		2.37
EN HECES													
EN HECES	A)	24.42	0.20		0.05	0.27	1.43	1.11	0.72	0.61	1.39	1.57	1.05
	B)	19.76	0.02		0.20	0.83	1.16	1.09	0.21	0.00	0.38	0.32	0.91
	C)	15.19	0.29		0.33	0.47	1.12	0.39	1.39	0.61	1.61	2.13	0.72

TABLA XI (Cont.)

COEFICIENTE T-STUDENT PARA TODOS LOS FACTORES Y PARA CADA PAR DE GRUPOS SEGUN EDAD

AI - TODOS LOS CASOS
BI - VARONES
CI - MUJERES

GRUPOS DE 11 A 20 Y DE 41 A 50		EDAD	COPRO	URG	PROTO	8COOH	7COOH	6COOH	9COOH	PI	4COOH	2COOH	INVOICE
EN ORINA													
AI	42.06	0.18	1.66			1.87	1.55	1.10	0.94		1.31		1.62
BI	28.97	0.23	2.23			0.14	0.84	1.50	1.19		0.19		0.57
CI	29.64	0.54	2.26			2.70	1.56	0.47	0.13		2.20		1.61
EN HECES													
AI	32.19	0.77			0.41	1.03	0.59	0.72	1.04	0.56	1.28	1.71	0.59
BI	24.27	0.10			0.07	0.68	0.65	1.15	0.42	1.19	0.42	1.27	1.33
CI	21.10	0.93			0.39	0.76	0.21	0.27	1.14	0.16	1.32	1.18	0.71
GRUPOS DE 11 A 20 Y DE 51 A 60		EDAD	COPRO	URG	PROTO	8COOH	7COOH	6COOH	9COOH	PI	4COOH	2COOH	INVOICE
EN ORINA													
AI	54.85	1.23	1.51			0.78	0.92	1.55	1.13		1.17		0.95
BI	34.71	2.00	0.25			0.30	0.11	1.50	1.62		0.82		0.38
CI	41.80	0.31	1.89			1.24	1.21	0.44	0.06		2.07		1.49
EN HECES													
AI	43.66	1.28			1.18	0.78	0.89	0.57	0.43	0.05	1.87	1.74	0.32
BI	29.64	1.69			0.32	0.13	1.02	0.55	1.03	1.13	1.40	1.09	1.18
CI	31.72	0.00			2.04	0.97	0.24	0.15	0.50	0.42	1.09	1.21	0.98
GRUPOS DE 11 A 20 Y DE 61 A 99		EDAD	COPRO	URG	PROTO	8COOH	7COOH	6COOH	9COOH	PI	4COOH	2COOH	INVOICE
EN ORINA													
AI	44.01	0.60	0.22			1.47	0.24	2.00	1.25		0.47		0.16
BI	28.42	0.67	0.62			0.47	0.35	1.18	1.66		0.29		0.39
CI	34.98	1.47	2.25			1.51	0.04	1.74	0.17		0.91		0.20
EN HECES													
AI	36.51	1.17			0.22	0.40	1.00	1.52	0.59	1.02	1.18	1.31	0.40
BI	28.18	1.03			0.23	0.04	1.29	1.15	0.37	0.00	0.45	0.32	1.15
CI	23.51	0.84			0.09	0.58	0.86	0.93	0.77	1.29	0.91	1.11	0.31
GRUPOS DE 21 A 30 Y DE 31 A 40		EDAD	COPRO	URG	PROTO	8COOH	7COOH	6COOH	9COOH	PI	4COOH	2COOH	INVOICE
EN ORINA													
AI	14.55	1.32	2.23			1.05	0.38	0.76	0.12		0.75		0.36
BI	11.17	0.55	0.42			0.24	0.49	0.58	0.43		0.16		0.48
CI	9.87	1.40	3.14			2.04	0.25	0.85	0.82		1.54		0.43
EN HECES													
AI	12.56	0.70			0.25	2.48	2.11	1.38	0.99	0.81	2.39	1.87	1.73
BI	10.93	0.98			0.53	2.50	1.81	1.28	1.10	1.30	0.98	0.46	1.86
CI	6.91	0.14			1.04	1.12	1.32	0.57	0.20	1.19	2.72	2.68	1.06

TABLA XI (Cont.)

COEFICIENTE T-STUDENT PARA TODOS LOS FACTORES Y PARA CADA PAR DE GRUPOS SEGUN EDAD

A) - TODOS LOS CASOS

B) - VARONES

C) - MUJERES

GRUPOS DE 21 A 30 Y DE 41 A 50		EDAD	COPRO	UWJ	PROTO	SCDH	7CDH	SCDH	9CDH	P1	4CDH	2CDH	INICE
EN ORINA													
A)	27.67	0.05	0.15			1.08	1.21	0.59	0.30		1.66		1.30
B)	18.05	1.16	0.49			1.42	1.90	0.36	0.09		1.41		1.89
C)	20.58	0.93	1.09			1.59	0.24	0.24	0.59		1.99		0.02
EN HECES													
A)	23.44	0.12		0.69		0.81	1.14	0.69	2.52	0.50	2.33	2.00	1.40
B)	18.58	0.80		0.68		0.75	1.83	1.22	1.20	0.60	0.92	1.41	2.19
C)	14.68	0.76		1.71		0.47	0.23	0.21	2.37	1.13	2.66	1.55	0.43
GRUPOS DE 21 A 30 Y DE 51 A 60		EDAD	COPRO	UWJ	PROTO	SCDH	7CDH	SCDH	9CDH	P1	4CDH	2CDH	INICE
EN ORINA													
A)	40.77	1.59	0.17			0.74	0.59	1.36	0.07		1.50		0.63
B)	25.15	1.33	0.32			1.11	1.46	0.14	0.52		0.96		1.22
C)	32.39	1.17	0.43			0.37	0.32	0.71	0.59		1.26		0.08
EN HECES													
A)	34.01	2.28		1.25		1.67	1.15	0.75	2.11	0.09	1.01	2.08	1.17
B)	24.71	2.42		1.31		1.50	1.56	0.71	1.73	0.76	1.97	1.27	2.04
C)	25.33	0.66		0.43		1.02	0.30	0.10	1.26	1.00	2.14	1.55	0.67
GRUPOS DE 21 A 30 Y DE 61 A 99		EDAD	COPRO	UWJ	PROTO	SCDH	7CDH	SCDH	9CDH	P1	4CDH	2CDH	INICE
EN ORINA													
A)	37.36	0.54	1.86			1.61	0.54	1.28	0.00		0.89		0.44
B)	24.97	0.32	1.29			1.76	1.02	0.54	0.66		1.41		1.00
C)	29.42	0.22	1.45			0.54	1.82	1.14	0.54		0.16		1.83
EN HECES													
A)	32.52	0.60		0.46		1.81	1.49	1.80	1.11	1.24	2.11	1.56	1.27
B)	24.94	0.74		1.11		1.37	1.97	1.87	0.58	1.04	0.86	0.84	2.43
C)	21.62	0.53		1.49		1.22	0.30	1.08	1.15	0.00	1.89	1.42	0.01
GRUPOS DE 31 A 40 Y DE 41 A 50		EDAD	COPRO	UWJ	PROTO	SCDH	7CDH	SCDH	9CDH	P1	4CDH	2CDH	INICE
EN ORINA													
A)	14.17	1.19	1.92			0.92	0.87	0.33	0.21		0.96		0.97
B)	9.87	1.36	0.10			1.65	1.45	0.31	0.37		1.59		1.61
C)	10.37	0.22	3.44			0.29	0.48	0.70	0.13		0.30		0.41
EN HECES													
A)	13.12	0.72		0.36		1.30	1.13	1.58	1.72	1.08	0.15	0.38	0.94
B)	9.95	0.13		0.12		2.18	0.65	1.59	0.23	1.19	0.09	1.04	0.65
C)	8.52	0.90		0.72		0.43	0.95	0.59	2.19	0.67	0.72	1.14	1.13

TABLA XI (Cont.)

COEFICIENTE Y-TESTUENT PARA TODOS LOS FACTORES Y PARA CADA PAR DE GRUPOS SEGUN EDAD

A) - TODOS LOS CASOS
B) - VARONES
C) - MUJERES

GRUPOS DE 31 A 40 Y DE 51 A 60													
EN ORINA													
EDAD	COPRO	UPJ	PROTO	8COOH	7COOH	6COOH	9COOH	P1	4COOH	2COOH	INDICE		
A) 24.94	0.40	1.81		0.03	0.26	0.30	0.03		0.85		0.31		
B) 17.91	0.49	0.10		1.62	0.98	0.28	0.08		1.21		1.01		
C) 20.57	0.02	3.07		1.28	0.49	0.20	0.03		0.10		0.91		
EN HECES													
A) 25.17	1.59		1.24	1.19	0.97	0.49	1.16	0.81	0.34	0.04	0.80		
B) 18.49	1.73		0.32	1.36	0.05	0.42	0.41	1.13	0.95	0.74	0.49		
C) 18.54	1.48		1.88	0.36	1.42	0.23	0.49	0.29	0.73	1.04	1.37		
GRUPOS DE 31 A 40 Y DE 61 A 99													
EN ORINA													
EDAD	COPRO	UPJ	PROTO	8COOH	7COOH	6COOH	9COOH	P1	4COOH	2COOH	INDICE		
A) 25.89	1.46	0.07		0.57	0.89	0.68	0.21		0.13		0.77		
B) 18.16	0.65	0.90		2.03	0.59	0.53	0.29		1.68		0.78		
C) 19.52	1.17	0.87		1.30	2.07	1.49	0.16		1.70		2.03		
EN HECES													
A) 24.34	1.19		0.16	0.70	0.73	0.39	0.13	1.02	0.12	0.14	0.74		
B) 19.28	1.19		0.41	1.00	0.15	0.38	0.95	0.00	0.17	0.29	0.28		
C) 15.40	0.65		0.30	0.08	1.03	0.49	0.86	1.28	0.87	1.11	1.04		
GRUPOS DE 41 A 50 Y DE 51 A 60													
EN ORINA													
EDAD	COPRO	UPJ	PROTO	8COOH	7COOH	6COOH	9COOH	P1	4COOH	2COOH	INDICE		
A) 12.09	1.40	0.28		0.90	0.57	0.56	0.21		0.00		0.62		
B) 7.61	1.98	0.09		0.37	0.70	0.35	0.44		0.93		0.84		
C) 9.35	0.20	0.62		0.95	0.10	0.87	0.07		0.34		0.05		
EN HECES													
A) 9.98	2.04		1.62	0.95	0.17	1.11	0.63	0.96	0.51	0.36	0.27		
B) 5.74	1.57		0.36	0.79	0.59	1.25	0.77	0.20	0.70	0.49	0.14		
C) 8.17	1.59		2.49	0.26	0.42	0.41	1.56	0.95	0.09	0.09	0.17		
GRUPOS DE 41 A 50 Y DE 61 A 99													
EN ORINA													
EDAD	COPRO	UPJ	PROTO	8COOH	7COOH	6COOH	9COOH	P1	4COOH	2COOH	INDICE		
A) 15.56	0.42	1.57		0.34	1.65	1.10	0.37		0.43		1.62		
B) 10.95	0.52	0.72		0.28	0.82	1.20	0.59		0.08		0.79		
C) 11.46	0.82	1.82		0.94	1.54	2.36	0.03		1.23		1.93		
EN HECES													
A) 15.04	0.42		0.22	0.73	0.47	1.33	1.56	1.37	0.03	0.49	0.20		
B) 10.81	1.05		0.27	0.65	0.80	2.19	1.71	0.95	0.07	0.58	0.58		
C) 10.57	0.50		0.46	0.44	0.05	1.54	1.74	1.22	0.26	0.02	0.34		

TABLA XI (Cont.)

COEFICIENTE T-STUDENT PARA TODOS LOS FACTORES Y PARA CADA PAR DE GRUPOS SEGUN EDAD												
A) - TODOS LOS CASOS												
B) - VARONES												
C) - MUJERES												
GRUPOS DE 51 A 60 Y DE 61 A 99	EDAD	COPED	ORG	PROTO	SCDOM	6C704	7C00M	8C00M	9C00M	P1	4C00M	2C00M
EN JERUSA												
A)	8.38	1.60	1.45		0.56	1.05	0.39	0.15			0.71	1.01
B)	8.03	1.18	0.78		0.69	0.27	1.32	0.25			0.52	0.07
C)	8.09	1.00	1.47		0.10	1.11	1.25	0.10			1.26	1.21
EN NECES												
A)	9.57	2.51		1.48	0.33	0.28	0.97	1.01	1.33	0.43	0.19	0.08
B)	7.01	2.06		0.06	0.22	0.08	0.35	1.19	0.90	0.33	0.26	0.23
C)	8.59	1.32		2.20	0.27	0.49	0.75	0.17	1.07	0.17	0.08	0.52

TABLA XII

MEDIAS, VARIANZAS Y COEFICIENTES DE VARIACION PARA TODOS LOS FACTORES, AGRUPADOS DE 20 EN 20 AÑOS

A) - TODOS LOS CASOS

[illegible]

TABLA XII (cont.)

MEDIAS, VARIANZAS Y COEFICIENTES DE VARIACION PARA TODOS LOS FACTORES, AGRUPADOS DE 20 EN 20 AÑOS

A) - TODOS LOS CASOS

B) - VARONES

C) - MUJERES

EDADES DE 41 A 60													
EN URINA													
N	EDAD	COPRO	URO	PROTO	8COOH	7COOH	6COOH	5COOH	P1	4COOH	2COOH	INDICE	
UN HIELES													
49	50-59	55-70	3-27	34-07	16-75	5-12	0-70	2-20	0-03	73-70		6-81	
24	50-50	65-25	4-58	38-10	14-46	5-05	0-51	2-04	0-03	77-93		6-46	
25	50-68	46-92	2-00	23-44	18-95	3-19	0-88	2-35	0-07	69-64		7-15	
EN URINA													
5	5-94	28-37	3-40	23-44	9-38	3-15	0-78	1-32	0-21	13-74		4-60	
6	6-20	29-25	2-53	20-27	7-96	3-20	0-59	1-71	0-27	11-24		4-66	
7	5-80	25-75	3-72	2-53	8-73	3-17	0-90	2-13	0-27	14-69		4-62	
8	0-12	0-51	1-04	0-87	0-51	0-62	1-12	0-87	0-27	0-14		0-68	
9	0-11	0-43	0-81	0-61	0-55	0-63	1-16	0-84	0-21	0-14		0-72	
10	0-11	0-35	1-27	0-46	0-46	0-61	1-03	0-91	0-73	0-21		0-65	
11	0-10	2-37	2-89	1-27	1-88	0-16	1-89	0-96	0-75	2-19		0-55	
UN HIELES													
46	51-02	11-78		34-07	1-07	0-22	0-52	1-19	0-03	24-94	70-69	1-06	
21	50-61	14-10		38-10	1-00	0-27	0-42	1-19	0-03	23-62	70-78	1-54	
25	51-20	9-84		30-68	1-13	0-18	0-59	1-19	0-07	26-04	70-79	0-65	
EN URINA													
5	5-90	10-27	5-05	23-44	1-53	0-37	0-85	1-29	0-21	9-65	12-21	1-59	
6	5-05	13-52	0-43	20-27	0-89	0-43	0-76	1-27	0-09	7-76	15-20	2-03	
7	6-25	6-08	0-82	20-27	1-94	0-32	0-93	1-33	0-27	9-63	7-31	0-95	
8	0-12	0-87	0-68	0-75	1-43	0-32	0-93	1-33	0-27	9-63	7-31	0-95	
9	0-11	0-96	0-75	0-80	0-89	1-59	1-78	1-09	3-17	0-41	0-22	1-32	
10	0-11	0-96	0-75	0-80	0-89	1-59	1-78	1-09	3-17	0-41	0-22	1-32	
11	0-12	0-62	1-71	0-66	1-71	1-72	1-57	1-12	3-61	0-29	0-13	1-47	
12	0-12	1-41		0-98	0-29	1-81	0-66	0-03	0-73	0-95	0-06	1-96	
EDADES DE 61 A 99													
EN URINA													
26	67-46	46-73	5-12	17-04	4-02	0-53	2-05	0-03	76-36		5-26		
11	69-55	60-36	6-09	16-12	4-30	0-77	1-75	0-07	77-07		5-55		
15	65-73	36-73	4-40	17-72	3-81	0-38	2-29	0-21	75-84		5-05		
EN URINA													
6	6-40	33-00	5-07	0-64	8-64	2-37	0-61	1-81	0-61	10-48		3-68	
7	7-02	32-16	5-74	0-79	0-79	2-88	0-67	1-39	0-27	10-38		4-11	
8	5-65	30-88	4-60	0-51	0-51	2-60	0-53	2-09	0-14	11-23		3-46	
9	0-09	0-71	0-79	0-55	0-55	0-64	1-12	0-89	0-13	0-14		0-70	
10	0-10	0-53	0-74	0-55	0-55	0-67	0-87	0-79	0-13	0-13		0-74	
11	0-09	0-84	1-04	0-50	0-50	0-63	1-38	0-91	0-75	0-15		0-68	
12	1-45	1-39	0-84	0-46	0-46	0-46	1-67	0-75	0-00	0-28		0-34	
EN HIELES													
25	69-76	7-40	27-20	0-85	0-27	0-88	1-87	0-00	24-29	71-91	1-03		
9	71-24	6-67	30-56	0-77	0-35	0-75	2-05	0-00	22-42	73-66	1-30		
16	66-94	8-44	23-38	0-89	0-22	0-95	1-65	0-00	25-34	70-93	0-88		
EN URINA													
6	6-07	5-37	5-37	24-79	1-36	0-44	0-99	2-07	0-00	10-79	12-62	1-54	
7	6-20	3-46	3-46	32-37	1-00	0-48	0-69	2-61	0-00	13-15	16-00	1-24	
8	6-34	6-48	6-48	17-91	1-56	0-42	1-14	1-65	0-00	9-53	10-79	1-70	
9	0-10	0-71	0-79	1-61	1-61	1-63	1-13	1-11	0-00	0-44	0-18	1-49	
10	0-07	0-52	0-82	1-30	1-39	0-91	0-91	1-37	0-00	0-59	0-22	0-96	
11	0-10	0-77	0-77	1-75	1-71	1-20	1-07	0-00	0-38	0-15	1-93	0-65	
12	0-62	0-76		1-62	0-22	0-68	0-47	0-46	0-00	0-64	0-31	0-65	

TABLA XIII

COEFICIENTE T-STUDENT PARA TODOS LOS FACTORES Y PARA CADA PAR DE GRUPOS SEGUN EDAD
 A) - TODOS LOS CASOS
 B) - VARONES
 C) - MUJERES

GRUPOS DE 1 A 20 Y DE 21 A 40												
EN URINA												
EDAD	COPRO	URJ	PROTO	SCODM	7CDDM	6CDDM	5CDDM	P1	4CDDM	2CDDM	TNDICE	
A) 20-32	1.71	0.02		0.07	0.73	0.38	1.08		0.05		0.79	
B) 13-68	2.47	0.31		2.86	1.44	1.37	1.21		2.74		1.59	
C) 14-86	0.29	0.28		2.41	2.44	0.58	0.33		2.43		2.64	
EN HECEES												
A) 19-19	1.07		0.07	1.11	0.81	0.23	1.29	0.08	1.22	0.62	0.47	
B) 13-34	0.03		0.19	0.10	0.39	0.36	0.29	0.57	1.45	1.22	0.04	
C) 13-98	1.37		1.25	1.43	0.80	0.27	1.71	0.56	0.15	0.49	0.67	
GRUPOS DE 1 A 20 Y DE 41 A 60												
EN URINA												
EDAD	COPRO	URJ	PROTO	SCODM	7CDDM	6CDDM	5CDDM	P1	4CDDM	2CDDM	TNDICE	
A) 39-55	1.88	1.19		1.59	1.33	1.59	0.76		1.39		1.99	
B) 26-30	2.04	0.19		0.41	0.99	2.47	1.29		0.22		0.82	
C) 29-09	0.48	2.03		2.37	1.54	0.14	0.10		2.90		1.96	
EN HECEES												
A) 36-44	2.12		1.19	0.73	0.59	0.41	1.74	0.77	0.66	0.93	0.77	
B) 25-23	1.73		0.63	0.00	1.10	0.72	1.54	0.33	0.00	0.35	1.79	
C) 26-79	1.41		1.26	0.90	0.33	0.53	0.84	0.66	0.93	0.83	1.06	
GRUPOS DE 1 A 20 Y DE 61 A 99												
EN URINA												
EDAD	COPRO	URJ	PROTO	SCODM	7CDDM	6CDDM	5CDDM	P1	4CDDM	2CDDM	TNDICE	
A) 45-87	0.05	1.23		1.44	0.29	1.20	0.86		0.62		0.12	
B) 30-33	1.05	1.19		0.35	0.01	1.23	1.30		0.17		0.02	
C) 34-83	0.87	0.62		1.32	0.36	1.54	0.00		0.43		0.13	
EN HECEES												
A) 43-28	0.01		0.14	0.09	1.03	1.41	0.21	0.96	0.22	0.35	0.61	
B) 29-02	0.79		0.82	0.49	1.54	0.90	0.18	0.59	0.30	0.20	1.40	
C) 32-91	0.62		0.10	0.37	0.12	1.19	0.30	0.78	0.50	0.84	0.19	
GRUPOS DE 1 A 40 Y DE 41 A 60												
EN URINA												
EDAD	COPRO	URJ	PROTO	SCODM	7CDDM	6CDDM	5CDDM	P1	4CDDM	2CDDM	TNDICE	
A) 20-26	0.44	1.18		1.41	1.08	0.33	0.29		1.82		1.17	
B) 13-04	0.04	0.45		1.99	2.13	0.32	0.19		1.85		2.09	
C) 15-60	0.80	2.40		0.28	0.52	0.40	0.44		0.99		0.29	
EN HECEES												
A) 19-11	1.46		0.37	0.32	0.23	0.64	2.72	0.73	1.87	1.54	0.19	
B) 13-29	1.93		0.96	0.11	0.67	0.77	1.96	0.31	1.36	1.59	1.40	
C) 13-46	0.06		0.07	0.38	0.96	0.22	2.33	1.10	1.09	0.31	1.30	

TABLA XIII (Cont.)

COEFICIENTE T-STUDENT PARA TODOS LOS FACTORES Y PARA CADA PAZ DE GRUPOS SEGUN EDAD

A) - TODOS LOS CASOS

B) - VARONES

C) - MUJERES

GRUPOS DE 41 A 49 Y DE 51 A 59	EDAD	COPRO	UR3	PROTO	9CDOM	7CDOM	6CDOM	5CDOM	P1	4CDOM	2CDOM	INDICE
EN URINA												
A) 28-38	1.12	1.23	1.30	0.76	1.30	0.76	1.30	0.15	0.15	0.60		0.64
B) 18-28	0.96	1.33	2.20	0.93	2.20	0.93	2.20	0.34	0.34	1.71		1.04
C) 22-75	0.78	0.46	0.25	2.14	0.25	2.14	1.32	0.29	0.29	0.97		2.00
EN HESES												
A) 29-03	1.00	0.36	0.38	0.24	1.29	0.24	1.29	0.77	1.09	1.15	0.93	0.10
B) 19-49	1.03	0.82	0.55	1.01	0.55	1.01	0.55	0.03	0.74	0.53	0.57	1.29
C) 20-99	0.68	1.15	0.79	0.90	1.33	0.90	1.33	1.15	0.81	0.51	0.22	0.64
GRUPOS DE 41 A 60 Y DE 61 A 99	EDAD	COPRO	UR3	PROTO	9CDOM	7CDOM	6CDOM	5CDOM	P1	4CDOM	2CDOM	INDICE
EN URINA												
A) 11-40	1.26	1.89	0.14	1.54	0.14	1.54	0.94	0.30		0.86		1.48
B) 8-10	0.46	0.04	0.55	0.66	0.55	0.66	1.19	0.50		0.22		0.55
C) 8-13	1.12	2.14	0.43	1.45	0.43	1.45	1.93	0.04		1.39		1.52
EN HESES												
A) 12-20	1.80	0.78	0.62	0.43	1.51	0.43	1.51	1.59	1.30	0.27	0.40	0.06
B) 8-67	1.61	0.12	0.64	0.42	1.12	0.42	1.12	1.25	0.94	0.28	0.50	0.33
C) 8-57	0.70	1.18	0.42	0.33	1.39	0.33	1.39	1.01	1.10	0.26	0.05	0.56

TABLA XIV

92

COEFICIENTES DE CORRELACION Y RECTA DE REGRESION PARA LOS QUE SE INDICA

=====

A) - TODOS LOS CASOS
B) - VARONES
C) - MUJERES

FACTLR X =====	FACTOR Y =====		C.CORREL. =====	C.REGRES. =====	INTERSEC. =====
CUPRO URINA	URO	A)	0.289	0.039	1.996
		B)	0.328	0.045	1.840
		C)	0.185	0.026	2.349
CUPRO URINA	COPRO HECES	A)	0.145	0.045	6.858
		B)	0.186	0.059	6.340
		C)	0.062	0.020	7.661
CUPRO URINA	UCODH URINA	A)	-0.120	-0.036	17.140
		B)	-0.044	-0.011	14.251
		C)	-0.080	-0.028	18.069
CUPRO URINA	7CODH URINA	A)	-0.027	-0.003	4.625
		B)	0.055	0.005	3.842
		C)	-0.043	-0.005	4.978
CUPRO URINA	4CODH URINA	A)	0.125	0.053	74.045
		B)	0.002	0.001	79.147
		C)	0.131	0.066	71.795
CUPRO URINA	INDICE URINA	A)	-0.039	-0.006	6.132
		B)	0.052	0.007	4.863
		C)	-0.053	-0.009	6.692
CUPRO URINA	INDICE HECES	A)	-0.033	-0.002	1.274
		B)	-0.072	-0.003	1.419
		C)	-0.018	-0.001	1.196
URO	CUPRO URINA	A)	0.289	2.162	42.407
		B)	0.328	2.392	49.127
		C)	0.185	1.304	38.556
URO	COPRO HECES	A)	0.117	0.318	7.858
		B)	0.115	0.364	8.174
		C)	0.101	0.245	7.675
URO	UCODH URINA	A)	0.106	0.234	14.392
		B)	0.119	0.228	12.531
		C)	0.158	0.387	15.518
URO	7CODH URINA	A)	0.020	0.015	4.423
		B)	-0.006	-0.004	4.185
		C)	0.076	0.062	4.547
URO	4CODH URINA	A)	-0.052	-0.164	77.419
		B)	-0.094	-0.258	80.366
		C)	-0.073	-0.258	75.530

TABLA XIV (cont.)

92

COEFICIENTES DE CORRELACION Y RECTA DE REGRESION PARA LOS QUE SE IN

A) - TODOS LOS CASOS
B) - VARONES
C) - MUJERES

FACTOR X	FACTOR Y		C.CORREL.	C.REGRES.	INTERSEC.
*****	*****		*****	*****	*****
URU	INDICE URINA	A)	0.020	0.022	5.752
		B)	-0.010	-0.010	5.348
		C)	0.085	0.100	5.965
URU	INDICE HECES	A)	0.052	0.026	1.080
		B)	-0.140	-0.062	1.510
		C)	0.166	0.088	0.838
COPRO + URU	URU	A)	0.405	0.052	1.128
		B)	0.441	0.057	0.827
		C)	0.315	0.043	1.468
COPRO + URU	COPRO HECES	A)	0.152	0.046	6.651
		B)	0.189	0.058	6.189
		C)	0.074	0.023	7.436
COPRO + URU	SCDOH URINA	A)	-0.102	-0.029	16.901
		B)	-0.026	-0.006	13.982
		C)	-0.056	-0.019	17.740
COPRO + URU	7CDOH URINA	A)	-0.023	-0.002	4.608
		B)	0.051	0.005	3.856
		C)	-0.031	-0.003	4.925
COPRO + URU	4CDOH URINA	A)	0.113	0.046	74.236
		B)	-0.010	-0.004	79.431
		C)	0.117	0.057	71.998
COPRO + URU	INDICE URINA	A)	-0.035	-0.005	6.108
		B)	0.048	0.006	4.887
		C)	-0.040	-0.006	6.608
COPRO + URU	INDICE HECES	A)	-0.026	-0.001	1.257
		B)	-0.082	-0.004	1.452
		C)	0.004	0.000	1.128
INDICE URINA	INDICE HECES	A)	0.114	0.050	0.873
		B)	0.323	0.142	0.475
		C)	0.012	0.006	1.105

TABLA XVI

EXCRECION URINARIA DE PRECURSORES DE LAS PORFIRINAS (ALA y PBG)
EN INDIVIDUOS NORMALES:

Nº casos	Sexo	Edad	ALA mg / l	PBG
1	V	7	1,41	0,00
2	V	10	2,35	0,00
3	V	10	3,29	0,00
4	V	10	2,12	0,00
5	V	12	1,41	0,00
6	V	13	0,00	0,00
7	V	13	4,23	0,00
8	V	15	4,70	0,00
9	V	16	7,99	0,00
10	V	20	1,88	0,00
11	V	22	3,76	0,00
12	V	22	1,41	0,00
13	V	22	0,00	0,37
14	V	23	5,17	0,00
15	V	24	1,88	0,00
16	V	24	7,99	0,00
17	V	28	5,40	0,00
18	V	34	1,54	0,00
19	V	37	3,06	0,75
20	V	39	2,35	0,00
21	V	51	0,00	0,00
22	V	53	0,00	0,00
23	V	56	6,11	6,71
24	V	60	0,00	0,00
25	V	62	2,35	0,00

TABLA XVI (cont.)

Nº casos	Sexo	Edad	ALA mg / l	PBG
26	V	65	5,17	2,98
27	V	65	5,17	3,73
28	V	69	4,70	3,73
29	V	76	1,17	0,00
30	V	80	3,76	2,98
31	M	5	1,41	0,00
32	M	6	0,47	0,00
33	M	8	0,94	0,00
34	M	8	6,58	5,97
35	M	13	6,58	0,00
36	M	13	3,29	0,00
37	M	14	6,11	4,47
38	M	15	0,00	0,00
39	M	18	3,29	0,00
40	M	18	4,23	0,00
41	M	21	1,88	0,00
42	M	22	6,58	3,73
43	M	23	1,88	0,00
44	M	24	6,11	5,97
45	M	25	5,64	5,97
46	M	25	7,52	0,00
47	M	26	5,64	4,48
48	M	27	2,82	0,00
49	M	27	1,41	0,00
50	M	37	5,64	0,00
51	M	41	3,29	0,00
52	M	43	5,64	3,73
53	M	49	2,82	0,00

TABLA XVI (cont.)

Nº casos	Sexo	Edad	ALA mg / l	PBG
54	M	54	0,00	0,00
55	M	57	1,41	0,00
56	M	59	0,71	0,00
57	M	62	4,27	5,22
58	M	66	0,00	0,00
59	M	73	0,00	0,00
60	M	74	0,00	0,00

TABLA XVII

VALORES MEDIOS DE LA EXCRECIÓN URINARIA DE PRECURSORES						
	Nº casos	ALA		mg / l	PBG	
		\bar{x}	DS		\bar{x}	DS
VARONES	30	3,01	2,27		0,70	1,62
		N.S			N.S	
MUJERES	30	3,18	2,50		1,46	2,33
AMBOS	60	3,20	6,35		1,08	2,02

\bar{x} Media

DS Desviación standard

N.S Diferencias estadísticamente no significativas

TABLA XXI

EXCRECION URINARIA DE PORFIRINAS EN INDIVIDUOS NORMALES DURANTE 5 DIAS: CASO A, Noche (24 h - 8 h)

	135,	140,	142,	145,	150,	
Diuresis (cc)	135,	140,	142,	145,	150,	
Creatinina (g/l)	3,52	2,64	2,67	2,70	2,82	
pH	5,9	5,60	6,00	5,70	6,00	
CP:						
µg/l	175,00	154,00	78,00	104,00	109,00	128,37 40,89
µg/periodo	23,62	21,56	11,07	15,08	16,35	17,53 5,06
µg/g creatinina	49,71	42,30	29,21	38,51	38,65	39,67 7,41
UP:						
µg/l	0	6,00	4,00	10,00	2,00	4,40 3,84
µg/periodo	0	0,84	0,56	1,45	0,30	0,63 0,55
µg/g creatinina	0	1,68	1,51	3,71	0,71	1,52 1,39
CARBOXIL-PORFIRINAS:						
8 COOH %	25,32	19,14	17,37	11,07	23,76	19,33 5,65
7 COOH %	7,36	2,46	6,36	5,36	9,77	6,26 2,68
6 COOH %	2,07	1,60	2,75	2,86	1,89	2,23 0,54
5 COOH %	1,94	1,93	3,60	2,14	3,35	2,59 0,81
4 COOH %	63,31	74,87	9,92	78,57	61,23	57,58 27,64
INDICE PCT	10,41	3,18	8,34	6,39	13,76	8,41 4,00

TABLA XXI (cont.)

CASO A, Mañana (8 h - 16 h)

	122	235	206	237	250	
Diuresis (cc)						
Creatinina (g/l)	1,87	1,42	1,65	1,62	1,79	
pH	6,20	6,30	5,90	5,40	6,50	\bar{x} 6,06
CP:						$\frac{D.S}{0,43}$
$\mu\text{g/l}$	80,00	84,00	53,00	106,00	110,00	86,60
$\mu\text{g/periodo}$	9,76	19,74	10,91	25,12	27,50	18,61
$\mu\text{g/g creatinina}$	42,78	59,15	32,12	65,43	61,45	52,18
UP:						14,15
$\mu\text{g/l}$	0	0	1,50	1,50	1,00	0,20
$\mu\text{g/periodo}$	0	0	0,35	0,35	0,25	0,12
$\mu\text{g/g creatinina}$	0	0	0,92	0,92	0,56	0,29
CARBOXIL-PORFIRINAS:						0,42
8 COOH %	14,54	17,42	17,59	14,14	11,80	15,10
7 COOH %	8,16	5,96	7,10	5,17	5,47	6,37
6 COOH %	1,34	3,25	1,54	1,72	1,15	1,80
5 COOH %	1,78	2,58	2,78	3,10	2,45	2,53
4 COOH %	74,18	70,79	70,99	75,89	79,13	74,19
INDICE PCT	9,91	7,77	9,09	6,38	6,47	7,29
						1,56

TABLA XXI (Cont.)

		CASO-A, Tarde (16 h - 24 h)					
		220	322	390	255	375	
Diuresis (cc)							
Creatinina (g/l)		2,04	1,87	2,11	2,80	1,89	
pH		5,80	5,60	6,00	5,70	6,00	
CP:							\bar{x} D.S
							6,20 0,53
$\mu\text{g/l}$		92,00	43,00	102,00	86,00	131,00	90,80 31,82
$\mu\text{g/periodo}$		20,24	13,84	39,78	21,93	49,12	28,98 14,81
$\mu\text{g/g creatinina}$		45,09	22,99	48,34	30,71	69,37	43,30 17,88
UP:							
$\mu\text{g/l}$		0	2,00	2,00	0	0	0,80 1,09
$\mu\text{g/periodo}$		0	0,64	0,78	0	0	0,28 0,39
$\mu\text{g/g creatinina}$		0	1,06	0,95	0	0	0,40 0,55
CARBOXIL-PORFIRINAS:							
8 COOH %		17,80	19,40	8,83	9,04	9,13	12,84 5,29
7 COOH %		3,66	8,18	3,62	3,31	11,69	6,09 3,72
6 COOH %		0,73	2,80	0,72	0,88	2,23	1,47 0,97
5 COOH %		0,98	4,96	1,45	1,32	3,19	2,38 1,67
4 COOH %		76,83	64,66	85,38	85,45	63,73	75,21 10,64
INDICE PCT		4,55	11,23	4,07	3,73	15,49	7,81 5,29

TABLA XXI (Cont.)

CASO-B, Noche (24 h - 8 h)						
Diuresis (cc)	456	626	720	585	415	
Creatinina (g/l)	1,26	1,53	1,29	1,36	1,69	
pH	6,20	7,10	6,20	6,34	6,60	
CP:						
µg/l	63,00	59,00	26,00	47,00	71,00	53,20 17,49
µg/periodo	29,00	37,00	18,72	27,49	29,46	28,33 6,52
µg/g creatinina	50,00	38,56	20,15	34,56	42,01	37,05 11,03
UP:						
µg/l	11,00	5,00	11,00	0	8,00	7,00 4,63
µg/periodo	5,00	3,00	7,92	0	3,32	3,84 2,90
µg/g creatinina	8,73	3,27	8,52	0	4,73	5,05 3,68
CARBOXIL-PORFIRINAS:						
8 COOH %	24,89	22,96	12,34	10,13	19,73	18,01 6,50
7 COOH %	5,49	5,62	4,87	3,58	5,81	5,07 0,90
6 COOH %	0,97	0,96	0,86	0,78	1,09	0,93 0,11
5 COOH %	0,97	1,44	1,30	1,40	0,73	1,16 0,30
4 COOH %	67,68	69,02	80,63	84,11	72,64	74,81 7,23
INDICE PCT	7,50	7,53	5,70	4,08	7,41	6,44 1,53

\bar{x} 6,49
D.S 0,38

TABLA XXI (Cont.)

CASO B, Mañana (8 h - 16 h)

	371	371	335	372	335		
Diuresis (cc)	371	371	335	372	335		
Creatinina (g/l)	1,80	2,06	2,02	1,88	2,05		
pH	5,60	5,55	5,50	5,60	5,90	\bar{x}	D.S
GP:						5,63	1,56
µg/l	40,00	86,00	59,00	49,00	33,00	53,40	20,67
µg/periodo	15,00	32,00	19,76	18,22	11,05	19,20	7,89
µg/g creatinina	22,22	41,75	29,20	26,06	16,09	27,06	9,55
UP:							
µg/l	7,00	1,00	0	0,28	0,40	1,75	2,95
µg/periodo	2,50	0,50	0	0,14	0,13	0,65	1,04
µg/g creatinina	3,88	0,48	0	0,20	0,19	0,95	1,64
CARBOXIL-PORFIRINAS:							
8 COOH %	20,54	21,86	15,57	20,78	21,53	20,05	2,56
7 COOH %	3,37	8,45	7,50	7,92	5,65	6,57	2,08
6 COOH %	0,84	0,82	1,03	1,35	1,13	1,03	2,19
5 COOH %	1,18	0,82	2,08	1,19	0,98	1,25	4,88
4 COOH %	74,07	68,05	73,82	68,76	70,71	71,08	2,79
INDICE PCT	4,35	11,05	9,22	10,33	7,40	8,47	2,68

TABLA XXI (Cont.)

		CASO B, Tarde (16 h - 24 h)				
Diuresis (cc)	471	345	610	475	800	
Creatinina (g/l)	1,18	2,74	1,21	1,69	1,08	
pH	6,60	5,90	6,30	6,50	5,60	\bar{x} 6,18 D.S. 4,20
CP:						
mg/l	103,00	59,00	68,00	44,00	13,00	57,40 32,95
mg/periodo	48,00	20,35	41,48	20,90	10,40	28,22 15,81
mg/g creatinina	87,29	21,53	56,20	26,03	12,03	40,61 30,88
UP:						
mg/l	8,00	11,00	5,00	0	0	4,80 4,86
mg/periodo	4,00	3,79	3,05	0	0	2,17 2,01
mg/g creatinina	6,78	4,01	4,13	0	0	2,98 2,94
CARBOXIL-PORFIRINAS:						
8 COOH %	20,34	15,89	21,01	18,79	17,76	18,75 2,04
7 COOH %	3,65	2,81	11,80	5,80	4,67	5,74 3,56
6 COOH %	1,25	1,08	1,23	1,02	0,93	1,14 1,12
5 COOH %	0,86	1,84	1,35	1,32	2,34	1,54 0,57
4 COOH %	73,90	78,38	64,61	73,07	74,30	72,85 5,04
INDICE POT	4,71	3,46	15,44	7,35	5,91	7,37 4,73

TABLA XXI (Cont.)

CASO C, Noche (24 h - 8 h)

	240	430	220	270	270	
Diuresis (cc)						
Creatinina (g/l)	2,54	1,86	2,43	2,63	2,76	
pH	4,85	4,65	4,95	4,85	5,25	\bar{x} 4,91 D.S. 0,22
CP:						
µg/l	103,00	9,00	27,00	18,00	15,72	32,54 40,10
µg/periodo	25,00	4,00	6,00	4,90	4,24	8,83 9,07
µg/g creatinina	40,55	4,83	11,11	6,84	5,69	15,69 17,24
UP:						
µg/l	5,00	4,00	7,50	3,74	10,97	6,24 3,03
µg/periodo	1,20	1,72	1,65	1,00	2,96	1,71 0,76
µg/g creatinina	1,97	2,15	3,08	1,42	3,97	2,52 1,00
CARBOXIL-PORFIRINAS:						
8 COOH %	19,32	33,93	21,85	26,38	20,18	24,43 6,06
7 COOH %	4,07	4,56	8,23	8,34	11,01	7,24 2,90
6 COOH %	0,34	0,50	2,18	2,15	2,75	1,58 1,09
5 COOH %	3,39	1,48	3,87	3,91	1,83	2,90 1,16
4 COOH %	72,88	59,53	63,87	59,22	64,22	63,94 5,52
INDICE PCT	5,29	7,11	11,41	12,34	14,64	10,16 3,85

TABLA XXI (Cont.)

CASO-C, Mañana (8 h - 16 h)

Diuresis (cc)	420	285	363	455	365	
Creatinina (g/l)	1,41	2,38	1,55	1,45	1,66	
pH	6,80	6,00	6,80	6,80	6,15	\bar{x} 6,51 $\frac{D.S.}{0,40}$

CP:

$\mu\text{g/l}$	32,00	114,00	59,00	21,00	53,60	59,92 37,49
$\mu\text{g/periodo}$	13,40	32,50	21,40	9,55	19,56	19,28 8,78
$\mu\text{g/g creatinina}$	22,69	47,90	38,06	14,48	11,78	26,98 15,54

UP:

$\mu\text{g/l}$	6,00	28,00	3,00	6,20	13,70	11,38 10,09
$\mu\text{g/periodo}$	2,50	8,00	1,00	2,82	5,00	5,26 2,67
$\mu\text{g/g creatinina}$	4,35	11,76	1,93	4,27	8,25	4,09 2,62

CARBOXIL-PORFIRINAS:

8 COOH %	28,36	13,45	15,53	15,89	23,93	19,43 6,39
7 COOH %	5,50	5,00	6,38	5,40	7,22	5,90 0,89
6 COOH %	0	0,83	1,28	1,20	2,25	1,11 0,81
5 COOH %	2,46	3,84	2,34	2,55	3,39	2,92 0,66
4 COOH %	63,61	76,88	74,47	74,96	63,21	70,64 6,63
INDICE PCT	7,95	6,11	7,89	6,72	10,25	7,78 1,58

TABLA XXI (Cont.)

		CASO C, Tarde (16 h - 24 h)					
		1050	285	900	1180	245	
Diuresis (cc)							
Creatinina (g/l)		0,30	2,22	0,52	0,49	1,84	
pH		5,75	6,40	6,40	6,10	6,40	
CP:							
µg/l		8,00	29,40	12,00	12,00	93,50	30,98 35,91
µg/periodo		8,40	8,40	10,80	14,16	22,90	12,93 6,05
µg/g creatinina		26,22	13,24	23,07	24,49	50,81	27,56 13,94
UP:							
µg/l		3,49	7,00	0	2,00	11,97	4,89 4,71
µg/periodo		3,66	2,00	0	2,36	2,93	2,19 1,37
µg/g creatinina		11,44	3,15	0	4,08	6,50	5,03 4,27
CARBOXIL-PORFIRINAS:							
8 COOH %		13,48	8,95	13,10	12,52	12,16	12,04 1,80
7 COOH %		4,25	4,24	4,80	4,84	6,08	4,84 0,75
6 COOH %		0	1,41	1,97	1,06	0,82	1,05 0,73
5 COOH %		4,26	1,41	1,51	2,48	1,91	2,31 1,16
4 COOH %		78,01	83,99	78,62	79,10	79,03	79,75 2,40
INDICE PCT		5,17	4,81	5,75	5,77	7,14	5,73 0,89

TABLA XXI (Cont.)

EXCRECION URINARIA DE PORFIRINAS EN INDIVIDUOS PORFIRICOS DURANTE 5 DIAS: CASO D, Noche (24 h - 8 h)

Diuresis (cc)	480	198	146	390	400	
Creatinina (g/l)	0,89	2,11	2,19	1,43	1,20	
pH	6,70	5,75	5,30	6,00	5,65	\bar{x} D.S. 5,88 0,52
CP:						
$\mu\text{g/l}$	14,00	25,00	40,00	30,00	48,00	31,40 13,18
$\mu\text{g/periodo}$	6,72	4,95	5,84	11,76	19,12	9,68 5,90
$\mu\text{g/g creatinina}$	15,73	11,84	18,26	24,05	39,80	21,93 10,92
UP:						
$\mu\text{g/l}$	80,00	67,00	90,00	75,00	70,00	76,40 9,07
$\mu\text{g/periodo}$	38,40	13,27	13,14	29,23	28,19	24,44 11,00
$\mu\text{g/g creatinina}$	89,88	31,79	41,09	60,14	58,04	56,12 22,24
CARBOXIL-PORFIRINAS:						
8 COOH %	53,39	52,37	47,61	44,11	44,73	48,44 4,27
7 COOH %	22,32	14,91	23,87	30,49	25,59	23,43 5,66
6 COOH %	3,51	1,53	2,65	5,18	4,94	3,56 1,54
5 COOH %	1,73	10,55	3,32	5,49	5,24	4,66 3,97
4 COOH %	19,05	20,64	22,55	14,75	19,50	19,29 2,88
INDICE PCT	53,95	41,94	51,42	67,43	56,75	54,30 9,21

TABLA XXI (Cont.)

CASO D, Mañana (8 h - 16 h)

	192	194	258	576	168	
Diuresis (cc)						
Creatinina (g/l)	1,97	2,51	1,86	1,53	2,66	
pH	8,75	5,90	5,50	5,55	5,30	\bar{x} 6,22 D.S 1,43
CP:						
µg/l	90,00	131,00	89,00	24,00	75,00	81,80 38,49
µg/periodo	17,28	25,41	22,96	13,98	12,52	18,43 5,59
µg/g creatinina	45,68	52,19	47,85	15,68	28,19	37,92 15,42
UP:						
µg/l	124,00	199,00	93,00	100,00	242,00	151,60 65,72
µg/periodo	23,85	38,61	23,99	57,44	40,65	36,91 13,93
µg/g creatinina	62,94	79,28	50,00	65,36	90,98	69,71 15,79
CARBOXIL-PORFIRINAS:						
8 COOH %	31,66	45,83	31,61	40,85	40,68	38,12 6,28
7 COOH %	17,34	16,51	19,59	25,44	25,42	20,86 4,32
6 COOH %	2,81	1,49	7,76	4,89	6,48	4,68 2,57
5 COOH %	4,46	8,08	10,02	10,02	7,48	8,01 2,29
4 COOH %	43,76	28,09	31,02	18,80	19,94	28,32 10,08
INDICE PCT	28,38	37,02	38,71	57,50	56,04	43,53 12,71

TABLA XXI (Cont.)

CASO D, Tarde (16 h - 24 h)						
	208	100	222	550	164	
Diuresis (cc)						
Creatinina (g/l)	1,92	2,19	2,28	1,17	2,04	
pH	8,20	5,95	5,35	5,80	5,60	
CP:						
µg/l	118,00	113,00	35,00	25,00	75,00	73,20 42,94
µg/periodo	24,50	11,30	7,84	13,48	12,38	13,90 6,29
µg/g creatinina	61,66	51,60	15,35	21,42	36,76	37,36 19,57
UP:						
µg/l	200,00	120,00	91,00	76,00	161,00	129,60 50,98
µg/periodo	42,87	12,00	20,15	41,68	26,38	29,81 15,22
µg/g creatinina	104,44	51,60	39,91	65,12	78,92	68,00 25,06
CARBOXIL-PORFIRENAS:						
8 COOH %	43,80	43,52	50,76	41,99	30,72	42,15 7,23
7 COOH %	17,41	19,09	22,82	17,30	25,35	20,39 3,55
6 COOH %	3,06	4,08	4,50	5,79	2,45	3,97 1,30
5 COOH %	2,40	4,24	6,01	8,37	4,61	5,12 2,22
4 COOH %	33,33	29,07	15,91	26,55	36,87	28,34 8,00
INDICE PCT	34,31	39,64	58,92	39,45	40,74	42,61 9,45

TABLE XXI (Cont.)

CASO-E, Noche (24 h - 8 h)		235	330	325	275	\bar{x}	D.S
Diuresis (cc)	350	1,37	1,61	1,37	1,45		
Creatinina (g/l)	6,35	5,50	6,25	6,00	5,55	5,93	0,39
pH							
CP:							
µg/l	653,00	697,00	921,00	478,00	611,00	672,00	161,51
µg/periodo	229,00	164,00	304,00	155,00	168,00	204,20	63,49
µg/g creatinina	476,64	425,00	572,00	348,90	421,38	448,78	82,54
UP:							
µg/l	3324,00	4279,00	3921,00	2950,00	3241,00	3543,00	542,08
µg/periodo	1163,00	1006,00	1070,00	959,00	891,00	1017,00	104,26
µg/g creatinina	2426,28	2609,14	2435,40	2153,28	2235,17	2371,85	180,11
CARBOXIL-PORFIRINAS:							
8 COOH %	27,34	42,23	38,35	57,10	59,64	44,93	13,46
7 COOH %	20,96	32,56	31,76	27,70	26,49	27,89	4,61
6 COOH %	9,45	7,83	10,20	5,54	5,25	7,65	2,23
5 COOH %	17,66	8,68	9,49	4,93	4,08	8,97	5,39
4 COOH %	24,59	8,73	10,20	4,73	4,54	10,56	8,22
INDICE PCT	46,02	78,84	75,69	85,41	85,37	74,26	16,34



TABLA XXI (Cont.)

CASO E, Mañana (8 h - 16 h)

Diuresis (cc)	198	210	210	275	144	\bar{x} 6,07	$\frac{D.S.}{0,45}$
Creatinina (g/l)	2,17	0,91	1,61	1,76	2,15		
pH	5,60	6,30	6,25	6,60	5,60		
CP:							
µg/l	720,00	574,00	572,00	372,00	539,00	555,40	124,11
µg/periodo	143,00	121,00	120,00	102,00	78,00	112,80	24,28
µg/g creatinina	331,80	610,64	355,28	211,36	250,70	351,95	156,00
UP:							
µg/l	3033,00	1673,00	3216,00	2232,00	2766,00	3584,00	630,00
µg/periodo	601,00	351,00	675,00	614,00	398,00	527,80	143,66
µg/g creatinina	1397,70	1779,79	1997,51	1268,18	1286,51	1545,94	325,97
CARBOXIL-PORFIRINAS:							
8 COOH %	41,94	58,33	39,88	50,58	29,85	44,12	10,84
7 COOH %	28,93	27,86	29,04	28,17	25,98	27,99	1,23
6 COOH %	8,71	3,97	10,67	7,15	12,42	8,58	3,26
5 COOH %	10,53	4,66	9,74	6,35	14,64	9,18	3,88
4 COOH %	9,89	5,18	10,67	7,75	17,11	10,12	4,45
INDICE PCT	74,52	84,32	73,13	78,42	60,29	74,14	8,87

CASO E, Tarde (16 h - 24 h)

CARBOXIL-PORFIRINAS:

INDICE PCT

VI.- COMENTARIOS

VI.1.- Material humano

Las cifras obtenidas de la determinación cuantitativa de porfirinas en individuos normales, los expresamos en $\mu\text{g/l}$, dado que ninguno de los sujetos estudiados estaba ingresado en un centro hospitalario por lo que la recogida de orina de 24 horas es poco factible y en casi ningún caso fiable.

Anteriormente comentábamos la dificultad en la recogida de heces de 24 horas y su diferente grado de hidratación, por ello y siguiendo la mayoría de los autores, expresamos nuestros resultados cuantitativos fecales en $\mu\text{g/g}$ seco.

En la Figura 19 podemos observar la distribución por edades del total de individuos analizados, las barras de línea continua corresponden a grupos de 20 en 20 años y en su interior y en línea de puntos en grupos de 10 en 10 años. En la figura 20 se puede ver, así mismo, la distribución por edades, pero distinguiendo sexos. Como puede observarse en ambas figuras, y quizá debido a que los individuos estudiados eran voluntarios de nuestro entorno familiar y de trabajo, la distribución por edades no es homogénea, siendo más amplio el número de casos por debajo de los 60 años.

VI.2.- Métodos analíticos

- Conservación de muestras:

Schwartz y cols. (204) propusieron la adición a la orina de 5 g. de carbonato sódico con el objetivo de impedir la pérdida de porfirinas durante su almacenamiento previo al análisis, al mismo tiempo que se consigue la conversión de los porfirinógenos en porfirinas. Por otro lado a pH alcalino la transformación no enzimática de PBG en uroporfirina es mínima, mien-

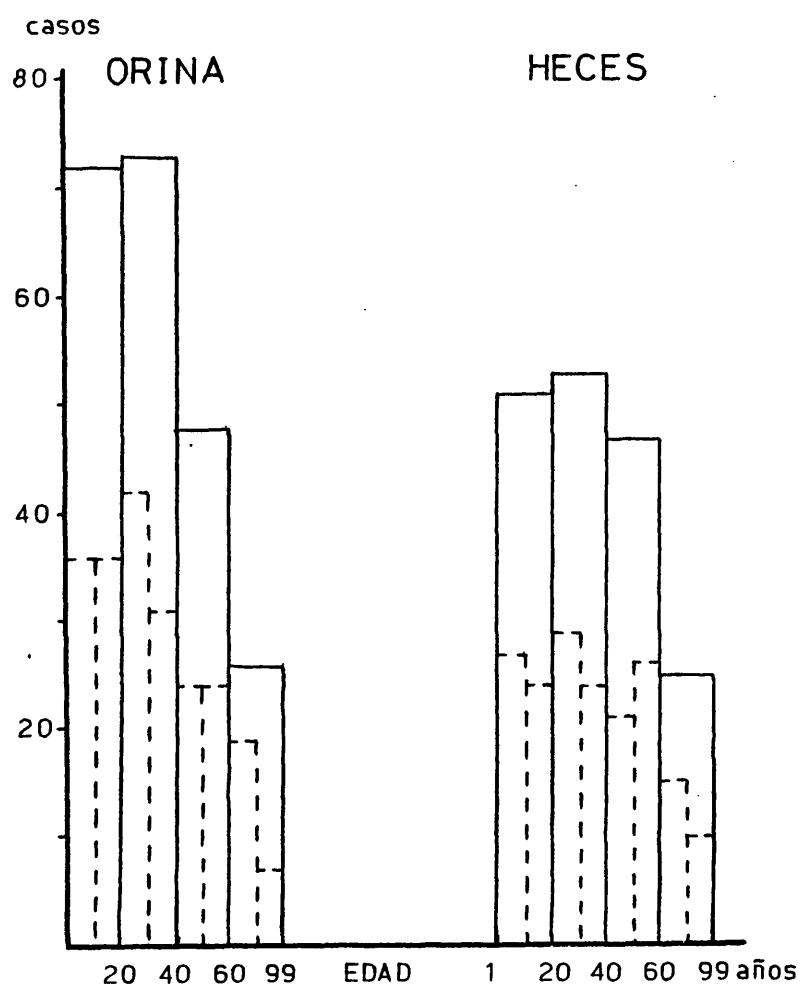


FIGURA 19.- DISTRIBUCION POR EDADES DEL NUMERO DE CASOS

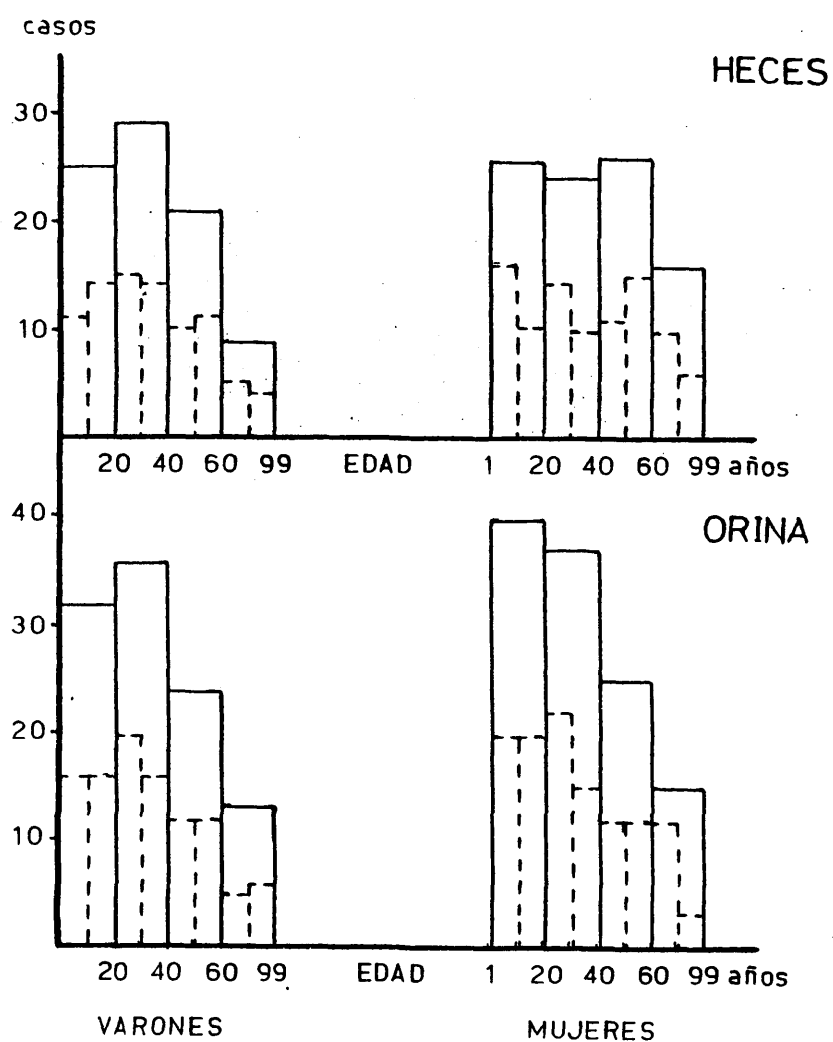


FIGURA 20.- DISTRIBUCION POR SEXOS Y EDADES DEL NÚMERO DE CASOS

tras que por el contrario a pH ácido esta conversión se ve facilitada, lo que explica el oscurecimiento que se observa en las orinas emitidas por pacientes con porfiria aguda cuando, acidificadas, se las expone a la luz. El uso de bicarbonato sódico (0,1 - 0,3 % peso/volumen) (24) o de una mezcla de fosfato sódico-ácido cítrico (251) son igualmente eficaces a la hora de retrasar la pérdida de porfirinas urinarias que pueden conservarse estables durante varios meses a -20°C. Para D'Alessandro Gandolfo y Topi (35) el almacenamiento de las orinas a 0° C no aporta ninguna ventaja adicional sobre la simple alcalinización. Estos mismos autores comprobaron también que la filtración de la orina origina una pérdida de cerca del 14 % de la coproporfirina que queda retenida en el papel de filtro. En la orina alcalinizada suele formarse un precipitado en el que quedan absorbidas parte de las porfirinas, a no ser que se añada EDTA (223), por lo que se debe agitar (y no filtrar) las muestras en el momento previo a su análisis.

En nuestro grupo de trabajo preferimos no emplear ningún aditivo en las orinas, que son habitualmente analizadas dentro de las primeras 24 horas de su recepción. La oxidación de los porfirinógenos, que en parte ocurre espontáneamente aunque la orina no sea alcalina, la conseguimos mediante el empleo de yodo (237) mientras que otros autores utilizan peróxido de hidrógeno (123) o cloranilo (2,3,5,6,-tetracloro-1,4,-benzoquinona) (208). Gran parte de las porfirinas analizadas en la orina es excretada en forma de porfirinógenos (237) que pueden ser cuantificados como tales mediante técnicas especiales (123)

Los precursores, ALA y PBG, deben ser analizados a partir de orina recién emitida. El PBG es particularmente inestable, y como ya mencionábamos, se polimeriza, especialmente en condi

ciones ácidas, para formar uroporfirina y porfobilina. Muestras de orina a pH 5,5 - 6,5 conservadas a - 30°C mantuvieron una concentración de ALA prácticamente constante durante 70 semanas (232).

Muy pocos estudios hacen referencia a la estabilidad de las porfirinas fecales. Para Elder (64) no se aprecian cambios significativos durante las primeras 24 horas de su emisión y pueden ser conservadas sin merma durante varios meses a - 20°C

- Tests de screening:

Los diversos tests de screening para los precursores y porfirinas excretadas, aunque utilizados en nuestro grupo de trabajo, no tienen una relación directa con la temática de la presente tesis doctoral por lo que obviamos su consideración. Extensas revisiones al respecto pueden encontrarse en las publicaciones de Eales y cols. (52), With (253), Elder (64) y Lammon y cols. (146).

- Determinación cuantitativa de las porfirinas excretadas:

La medición de la porfirinuria total mediante espectrofotometría directa de la orina diluida 1/10 con CLH 1 N ha sido propuesta por With (251), pero la presencia de compuestos que absorben en la región de Soret del espectro interfieren la medición. La mayor sensibilidad de la fluorometría permite detectar la concentración de porfirinas en orinas mucho más diluidas con lo que se minimizan las interferencias (208). Similares ventajas aporta el análisis del espectro con un espectrofotómetro de doble longitud de onda (260) (124).

Mediante el uso de resinas de intercambio iónico se puede a la vez eliminar las sustancias que interfieren la lectura y concentrar las porfirinas que tras su elución de la columna puede ser medidas espectrofotométricamente (254) o fluorométricamente

te (157). Existen en el mercado columnas desechables de resina Dowex 1 x 8 (Bio-Rad), diseñadas en principio como test de screning, pero usadas por Doss y Schmidt (43) para la determinación cuantitativa de la porfirinuria total a partir de 1 ml de orina. Sin embargo para With y Pedersen (254) la recuperación y el precio son notablemente más ventajosos usando resinas Dowex 2 x 8. El pH de la orina ha de estar situado entre 4 y 7 - ya que si es más alcalino la mayoría de las porfirinas pasan a través de la columna sin ser absorbidas. D'Alessandro y Topi (37) idearon un método original para la cuantificación de la porfirinuria total basado en su absorción con cloruro de bario de cuyo precipitado se extraen las porfirinas con ClH que es - medido espectrofotométricamente. En 1978 publicábamos nuestra experiencia personal con dicha metodología (175) que comparábamos con un método clásico. La técnica de D'Alessandro y Topi (37) carece, en nuestra opinión, de suficiente sensibilidad ante orinas con normal contenido porfirínico, aunque resulta excelente para la cuantificación de elevadas porfirinurias.

Por cromatografía sobre columna de trisilicato de magnesio activado (Florisil) (207) o de resinas de intercambio iónico (223) pueden separarse fracciones porfirínicas. Pero los métodos de partición solvente son los habitualmente empleados para la cuantificación de las clásicas fracciones uro, copro y protoporfirina. Las porfirinas son anfólitos, es decir solubles en ácidos y en bases (78). Su solubilidad es menor a pH 4, que corresponde a su punto isoeléctrico; y a este pH pueden ser - transferidas de una solución acuosa (como la orina) a solventes orgánicos tales como éter, acetato de etilo, butanol o alcohol amfílico. Del éter las porfirinas pueden ser extraídas con solución ClH, siendo este coeficiente de partición entre el éter y

el ácido clorhídrico descrito como "número clorhídrico" (aquella concentración de ClH en g/dl que extrae 2/3 de las porfirinas de un volumen igual de éter). La solubilidad de las porfirinas en éter es inversamente proporcional del número de grupos COOH presentes en las cadenas laterales de sus moléculas. Así, la Uro (octocarboxílica), que como ya comentábamos anteriormente es muy hidrosoluble, no es soluble en éter, al contrario de la proto cuyo número ClH es de 2,5 (el de la copro es de sólo 0,5), cifra ésta tan alta en parte también debida a sus sustituyentes vinílicos.

Mediante estas técnicas de partición solvente la Copro extraída de la orina por éter o acetato de etilo, y de estos solventes por solución ClH. La Uro, éter-insoluble, permanece en la fase acuosa de la que es extraída con acetato de etilo (90) (206) o con ciclohexanona (187), o con n-butanol (80).

Las porfirinas fecales son extraídas con acetato de etilo-ácido acético (90) o más comúnmente con éter acidificado (111). En virtud de su bajo número ClH la Copro es extraída del éter con una solución muy diluida (0,1 N) de ClH, lo que permite separar esta fracción de la Proto que es arrastrada del éter mediante ClH 1,5 N.

La medición de la Uro fecal es sumamente difícil, ya que por su naturaleza altamente polar queda absorbida en las superficies de los residuos fecales. Los diversos solventes empleados para su extracción (ciclohexanona, hexanona, n-butanol,..) disuelven también otros materiales orgánicos dificultando su análisis (228). Tras la extracción de las porfirinas éter-solubles permanece en el residuo fecal un conjunto de porfirinas éter-insolubles que han sido denominadas fracción o porfirina X (186) y que pueden ser medidas tras su extracción con una solución de urea al 45 % que contenga un 4 % de Triton-100. En -

nuestro grupo de trabajo se estudió hace ya años esta fracción X en individuos normales y en pacientes afectados de PCT y PV (porfiria variegata) (68). En 13 sujetos normales la porfirina X arrojó un valor medio de $2,6 \pm 2,7 \mu\text{g/g}$ seco cuando las otras porfirinas fecales eran extraídas previamente con acetato de etilo-ácido acético (método de Gajdos y Gajdos-Torök (90) que - en parte extrae también la Uro), mientras que la extracción previa con éter acidificado (método de Holti y cols. (111)) dió lugar a valores más elevados de porfirina X ($9,5 \pm 11,9 \mu\text{g/g}$ seco) que en estas circunstancias contiene cualquier porfirina - que haya permanecido en el residuo fecal (55).

Los diversos métodos de extracción y partión solvente, aunque imperfectos y poco selectivos (36), han sido y son ampliamente utilizados por la mayoría de los porfirinólogos. No requieren una tecnología especial, son sencillos, y proporcionan información suficientemente útil para el diagnóstico de enfermedad porfírica y tipificación de su variedad. No obstante hoy en día han de utilizarse como complementarios de las técnicas separativas que individualizan las diversas carboxil-porfirinas,

Las clásicas fracciones Uro, Copro y Porto están constituidas en realidad por mezclas de diferentes porfirinas. Así lo - comprobamos personalmente en un trabajo previo (174) al someter a individualización cromatográfica los extractos clorhídri cos de estas fracciones urinarias y fecales. Más recientemente Christensen y Romslo (27) llegaron a similares conclusiones - tras observar mediante cromatografía líquida de alta presión - que la fracción Copro fecal se encuentra falsamente elevada sobre todo cuando la excreción de Proto está notablemente incrementada como sucede en la protoporfiria eritropoyética.

- Métodos cualitativos, individualización de las diversas carboxil-porfirinas:

Según el número de grupos carboxílicos (COOH) presentes en las cadenas laterales de su moléculas las porfirinas excretadas pueden ser individualizadas mediante cromatografía en columna (29) (248) o papel (28) (76), distribución contra-corriente (177) (86) electroforesis sobre papel (154) (246) o sobre acetato de celulosa (37) (160), métodos todos éstos que han sido desplazados por la cromatografía sobre capa fina o líquida de alta presión. Indudablemente esta última (24) (27) muestra ventajas definitivas sobre la cromatografía en capa fina, ya que ofrece una mejor resolución, una más fácil cuantificación, y la posibilidad de separación de las diversas porfirinas dicarboxílicas e isocopro-porfirinas así como de los isómeros. No obstante las dificultades técnicas y sobre todo económicas explican el hecho de que la cromatografía en capa fina (CCF) sea el método más comunmente usado por los porfirinólogos.

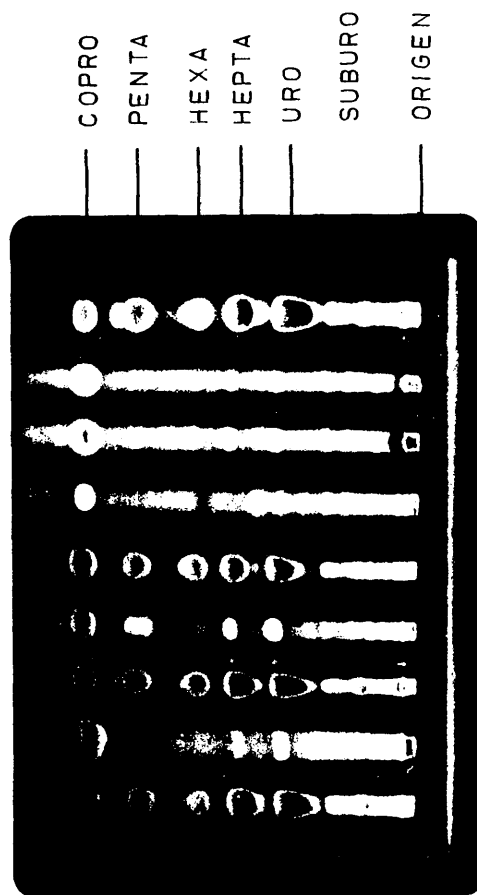
Aunque la CCF puede aplicarse sobre las porfirinas libres (247), su esterificación previa las estabiliza. Para ello las porfirinas urinarias han de ser previamente absorbidas en talco, no sólo para su concentración sino también para evitar el exceso de agua que dificultaría el proceso de esterificación. La presencia de hasta un 10 % de agua no afecta notoriamente a la esterificación (238) que por otra parte nunca llega a ser completa, aun en ausencia aparente de agua, ya que la misma esterificación de Copro y Uro libera respectivamente 4 y 8 moles de agua por molécula de porfirina (250). Cada mg de talco a pH 3 - 4 es capaz de absorber unos 4 mg de porfirinas (252). Las heces pueden ser directamente esterificadas, aunque algunos autores prefieren liofilizarlas previamente (245). Las diversas

modalidades de esterificación de las porfirinas y de desarrollo de los cromatogramas son ampliamente comentadas por Elder (64), Falk (78), Doss (42) y Smith (219).

Como ya referíamos en la sección de métodos, en nuestro grupo de trabajo usamos con excelentes resultados el sistema de solvente propuesto por Sears y cols. (209) que nos permite con un sólo recorrido unidireccional la separación de la isocopro-porfirina de la también tetracarboxílica coproporfirina. Un segundo recorrido en la mezcla cloroformo/keroseno no sólo intensifica la fluorescencia porfirínica sin modificar su R_f sino que también estabiliza la tan delicada protoporfirina (38).

El scanning fluorimétrico nos permite evitar la tediosa e imperfecta elución de cada banda porfirínica o su subjetiva medición visual, a la par que nos proporciona un registro gráfico permanente del perfil de cada cromatograma. Sistemáticamente hemos despreciado las porfirinas que permanecen cerca del origen del cromatograma y las que tienen una migración (R_f) más lenta que la octocarboxílica uroporfirina. Esta configuración de las sub-uroporfirinas, en parte estudiada por Rimington y With (189), contiene no sólo hidroxiporfirinas y porfirinas peptido-conjugadas (porfirina X), sino también porfirinas parcialmente esterificadas y metaloporfirinas. Las porfirinas ligadas a cobre no fluorescen bajo la luz ultravioleta mientras que las unidas a zinc emiten una característica fluorescencia naranja (44).

122 *gr*



FOTOGRAFIA DE CROMATOGRAMAS URINARIOS

VI.3.- Resultados:

- Excreción cuantitativa de porfirinas urinarias y fecales:

El valor medio de la coproporfirinuria en nuestros 219 individuos normales fué de $51,00 \pm 27,5 \mu\text{g/l}$. El límite superior de la normalidad queda establecido en $133,5 \mu\text{g/l}$ al sumar al valor medio 3 desviaciones standard. De igual forma la uroporfirinuria cuyo valor medio fué de $3,97 \pm 3,68 \mu\text{g/l}$ ha de ser inferior en condiciones normales a $15,01 \mu\text{g/l}$ en el 99 % de los casos.

Al subdividir nuestra casuística en razón del sexo apreciamos (tabla IX y Figura 21) que existen diferencias estadísticamente significativas, más pronunciadas en lo que respecta a la fracción coproporfirina. Por tanto los límites superiores de la normalidad quedan establecidos de la siguiente forma:

	COPRO $\mu\text{g/l}$	URO
Varones	<144,4	<16,1
Mujeres	<116,4	<13,8

Desde los trabajos de Zieve y cols. (260) se admite que la coproporfirinuria fisiológica es discretamente mayor en los varones que en las mujeres, aunque en las cortas series de algunos autores (80) (85) tales diferencias no llegan a ser estadísticamente significativas. En la tabla XV exponemos los datos observados por algunos autores junto a los de nuestra casuística. Resultan realmente extraños los hallazgos de Sanchis Cervera y cols. (193) que aprecian una mayor coproporfirinuria en las mujeres.

Hsia y Page (112) analizan la eliminación urinaria de copro en 98 niños menores de 16 años observaron una más directa correlación positiva con el peso corporal que con la edad o la superficie corporal.

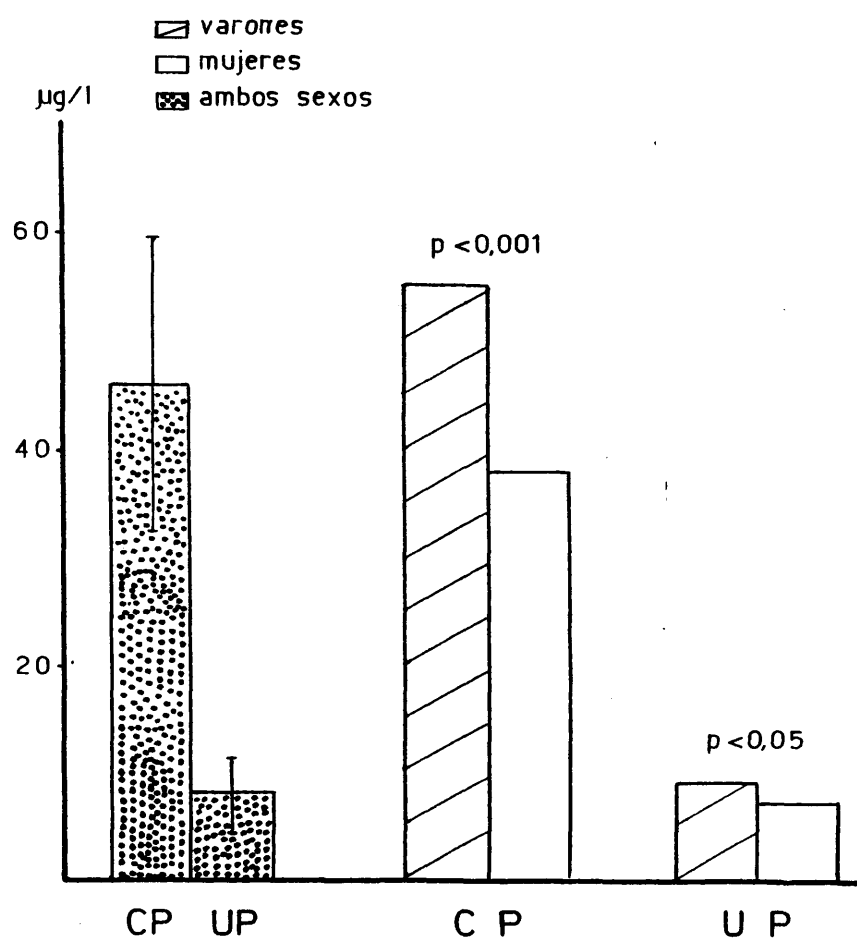


FIGURA 21.- EXCRECION MEDIA DE LAS FRACCIONES COPROPORFIRINA (CP) Y UROPORFIRINA (UP) EN 119 INDIVIDUOS NORMALES

TABLA XV

VALORES COMPARATIVOS DE LA EXCRECION URINARIA DE PORFIRINAS EN INDIVIDUOS NORMALES

AUTORES	Nº casos	Sexo	COPRO µg/l	PORFIRINAS TOTALES µg/l
Koskelo y Mustajoki (139)	15	V	103 ± 28,1	
	15	M	80 ± 30,4	
Sanchis Cervera (193)	30	V	63,2 ± 35,99	
	20	M	82,15 ± 37	
Doss y Schmidt (43)	48	V		55 33
	47	M		47 33
Jones y Sweeney (124)	30	V		65 (nmol/l)
	37	M		60 (nmol/l)
Nuestros valores	103	V	59,97 ± 28,14	
	116	M	43,09 ± 24,43	

La más elevada coproporfirinuria de los varones quizá no dependa únicamente de su mayor peso corporal, la influencia de factores hormonales ha de tenerse en cuenta. Las diferencias en la eliminación urinaria de copro son estadísticamente significativas entre los 21 y los 40 años y en menor grado entre 41 y 60 años (Figura 22), pero no lo son por debajo de los 21 y por encima de los 60. Más concretamente, es entre los 21 y los 30 años cuando tal diferencia adquiere su mayor diferencia estadística (tablas X y XI). La uroporfirinuria sólo es significativamente superior en los varones respecto a las mujeres en el subgrupo de edad comprendido entre los 41 y 60 años (Figura 22), mientras que al subdividir nuestra casuística por decadas y sexos las diferencias alcanzan significación.

La Figura 23 recoge la eliminación urinaria de las fracciones Copro y Uro (CP y UP) en varones y mujeres conjuntamente subdivididos en razón de su edad, no existiendo diferencias estadísticamente significativas. Ya que estas si se aprecian en razón del sexo, la eliminación urinaria de porfirinas no se debe considerar en su conjunto.

Hemos de insistir nuevamente en que tales fracciones son muy poco específicas ya que incluyen no sólo la coproporfirina, tetracarboxílica, y la uroporfirina, octocarboxílica, otras porfirinas con diferentes números de grupos carboxílicos.

En nuestros 176 casos la excreción fecal media de las fracciones copro y proto fueron respectivamente $9,29 \pm 8,00 \mu\text{g/g}$ seco y $30,83 \pm 23,77 \mu\text{g/g}$ seco. Por tanto los límites superiores de la normalidad ($\bar{x} \pm 3 \text{ D.S.}$) son de $33,29 \mu\text{g/g}$ seco para la coproporfirina y $102,14 \mu\text{g/g}$ seco para la protoporfirina. No apreciamos diferencias estadísticamente significativas en razón del sexo (Figura 24 y tabla X), por lo que la porfirinorrea

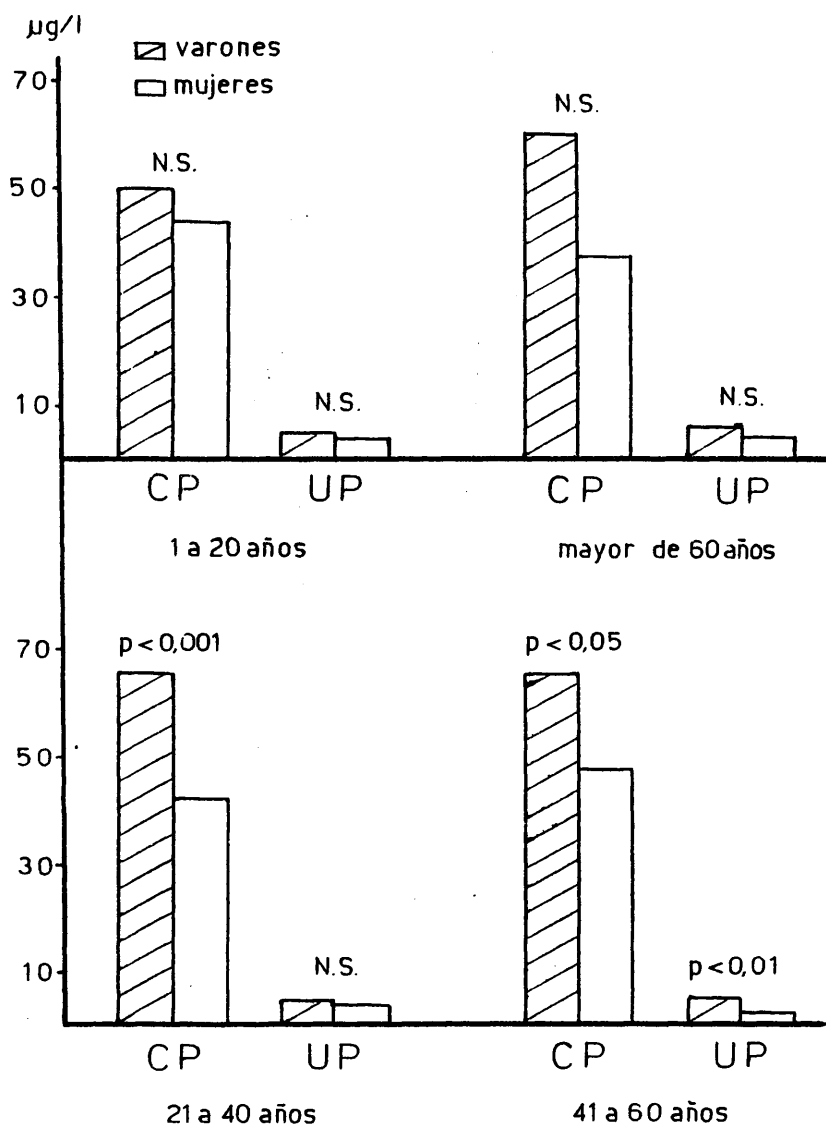


FIGURA 22.- EXCRECION MEDIA DE LAS FRACCIONES COPROPORFIRINA (CP) Y UROPORFIRINA (UP) DISTRIBUIDA POR EDADES

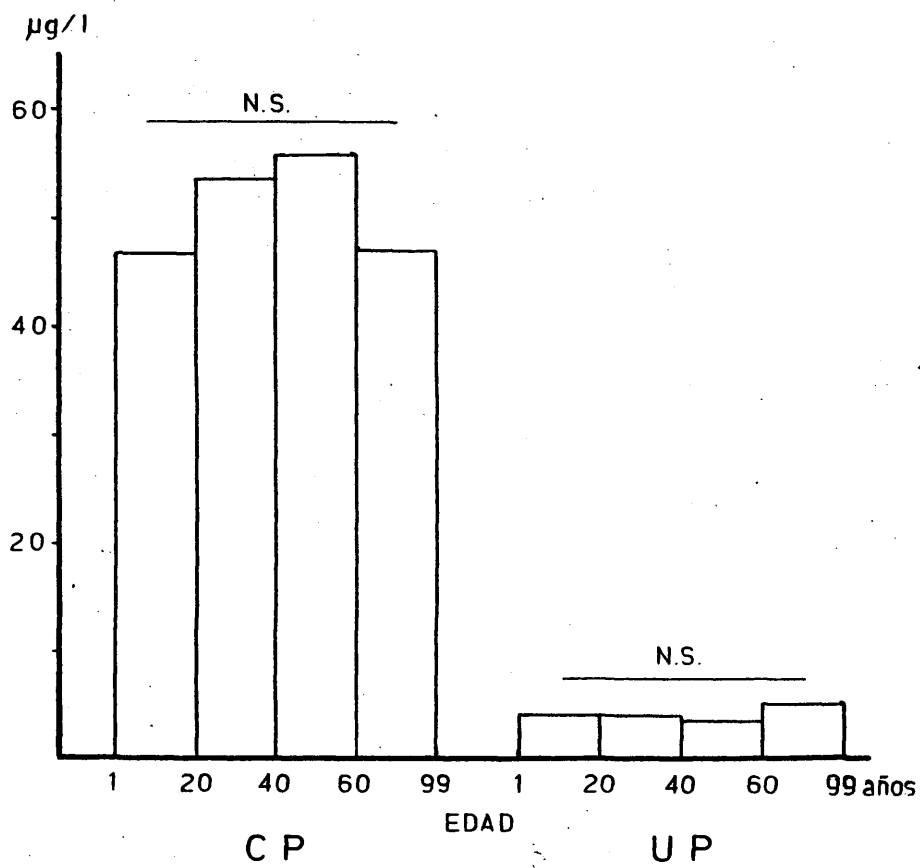


FIGURA 23.- EXCRECION MEDIA DE LAS FRACCIONES COPROPORFIRINA (CP) Y UROPORFIRINA (UP) COMPARANDO POR EDADES.

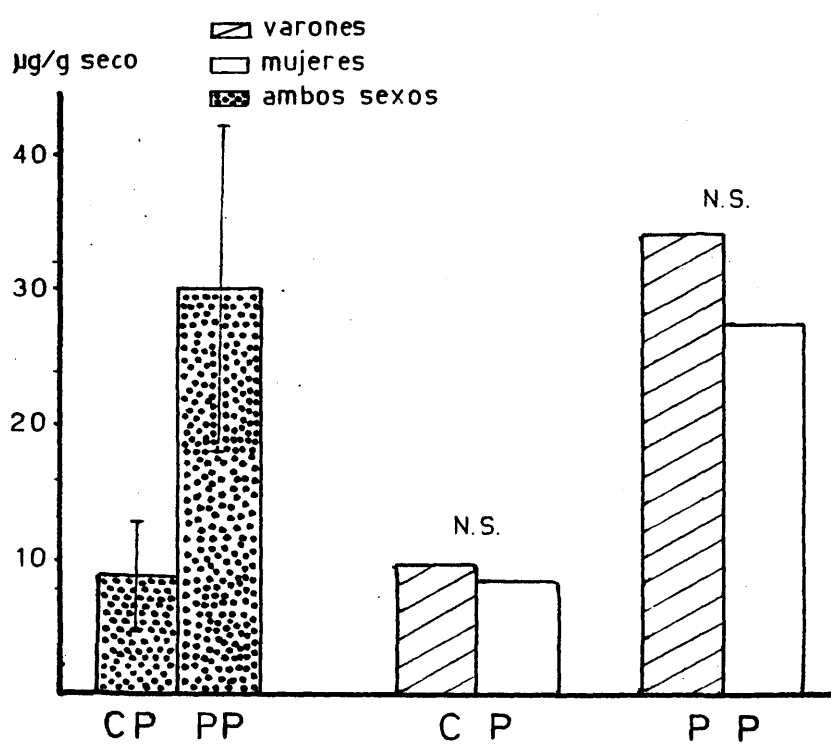


FIGURA 24.- EXCRECION MEDIA DE LAS FRACCIONES COPORPOR-
FIRINA (CP) Y PROTOPORFIRINA (PP) EN 176
INDIVIDUOS NORMALES

puede ser considerada independientemente del sexo. Al subdividir nuestro protocolo en razón de la edad (Figura 25 y Tablas X, XI, XII y XIII) apreciamos que los individuos con edades comprendidas entre los 41 y los 60 años muestran una excrección algo más elevada, aunque únicamente difiere respecto al grupo de los menores de 20 años. Ello es debido fundamentalmente a la baja coproporfirinuria de los menores de 11 años (5,4 $\mu\text{g/g}$ seco) y a la más elevada (14 $\mu\text{g/g}$ seco) de los sujetos comprendidos entre los 51 y 60 años. En esta última década el valor medio de la copro fecal es de 18,3 $\mu\text{g/g}$ seco en los varones y 11,5 $\mu\text{g/g}$ seco en las mujeres, mientras que en los menores de 10 años la copro fecal de los varones es de 7,36 $\mu\text{g/g}$ seco y el de las mujeres de 4,1 $\mu\text{g/g}$ seco (Tablas X y XI), pero tales diferencias no alcanzan significación estadística. La excrección fecal de proto prácticamente no se ve influenciada ni por la edad ni por el sexo.

En las heces de sujetos normales la porfirina predominante es la proto, a diferencia de lo que ocurre en la bilis, en la cual Watson y cols. (237) encuentran únicamente copro y French & Thonger (86) observaron un claro predominio de la copro, con cantidades de proto apenas detectables. Según estos hallazgos habría que considerar que la fuente de la proto fecal, que en teoría sería del metabolismo endógeno a través de la bilis, no es exclusivamente endógena. Son interesantes los estudios con meconio, derivado de la bilis y presumiblemente originado únicamente del metabolismo endógeno del feto, ya que no sufre contaminación por alimentos o bacterias, es poco probable que existan hemorragias digestivas y no se ha probado contribución materna de porfirinas, excepto en la porfiria congenita (128). French y Thonger (86) en meconio de fetos humanos, terneros y

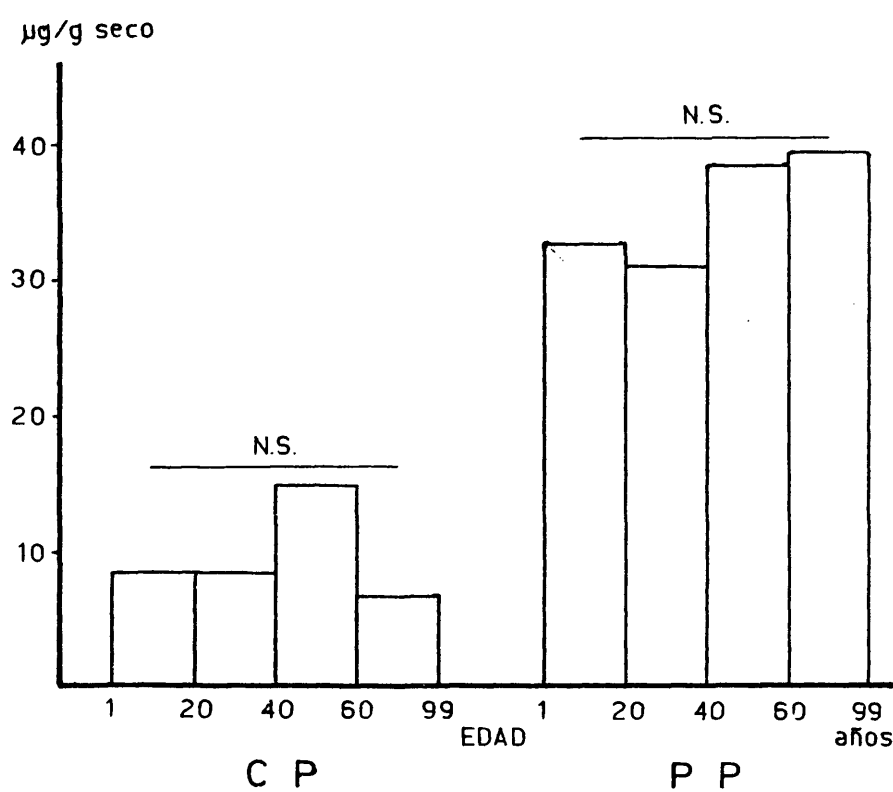


FIGURA 25.- EXCRECION MEDIA DE LAS FRACCIONES COPROPORFIRINA (CP) Y PROTOPORFIRINA (PP) COMPARANDO POR EDADES.

potros encuentran una proporción baja de PP/CP, a semejanza de lo que ocurre en bilis, Quizá la conclusión sea que esta proporción es un reflejo de la producción endógena de ambas porfirinas y que la gran cantidad de proto fecal en sujetos normales sea en su mayoría de origen exógeno. Estas fuentes exógenas son principalmente la dieta, las hemorragias digestivas y la síntesis bacteriana.

En las heces se han podido aislar además de copro y proto, pequeñas cantidades de porfirinas dicarboxílicas del tipo de las deuterio, meso y pemptoporfirinas (22) (66) (86). Según Herbert (110) sólo una minoría de sus enfermos porfíricos tenían exclusivamente proto como única porfirina dicarboxílica fecal, oscilando la proporción de porfirinas dicarboxílicas entre el 29 % y 100 % para la proto, del 0 % al 68 % para la deuteroporfirina y entre el 0 % y el 25 % para la mesoporfirina. El origen de estas porfirinas dicarboxílicas pudiera ser por descomposición bacteriana de compuestos que contienen hemo, bien hemoglobina procedente de pequeñas hemorragias digestivas, o de la mioglobina existente en la carne de la dieta. Esta suposición es apoyada por los diferentes estudios en pacientes con procesos crónicos y/o infecciosos intestinales o en tratamiento con antibióticos. Vannotti (235) que estudia un paciente con esteatorrea persistente observando incremento de la deuteroporfirina en heces. England y cols. (65) aportan un caso de un paciente con enfermedad de Whipple en el cual observaron una gran cant. de deuterio o mesoporfirina, en heces. England y cols. (66) en pacientes con malabsorción encontraron un incremento importante de meso y deuteroporfirina fecales. Estos últimos autores han observado disminución en la excreción fecal de porfirinas dicarboxílicas tras la administración de antibióticos, tanto en sujetos normales como en pacientes con esteatorrea. Fren

ch y Thonger (86) en bilis y meconio humano no han encontrado trazas de porfirinas derivadas de la degradación bacteriana de la proto (deutero y mesoporfirina).

Grosser y Eales (102) discuten los diversos factores endógenos, exógenos y metodológicos que pueden influir en la valoración de la excreción porfirínica fecal. Elder (59) resume el origen de las porfirinas dicarboxílicas fecales de la forma siguiente:

1.- Endógeno:

- 2.- a) Hemo y hemoproteínas degradadas a porfirinas por los mi
E croorganismos intestinales;
x
ó - Alimentos
g - Hemorragias gastrointestinales
e - Descamación de células intestinales
n
o b) Síntesis de "novo" por microorganismos.
c) Porphirinas preformadas de los alimentos.

. Como ya comentábamos en la introducción la coproporfirina es mayoritariamente excretada por vía bilio-fecal. En circunstancias normales el peso seco de las heces es de unos 20 g/día para Elder (56), 25 g para Sweeney (228) y de 34 g para Koskela y Mustajoki (139), aunque consideremos el valor más bajo es de cir 20 g/día al multiplicar esta cifra por 9,29 ng/g seco que es la media de la fracción copro fecal en nuestros 176 casos obtenemos 186 hgramos de coproporfirina eliminada diariamente por heces. En cambio como ya referimos anteriormente la excreción urinaria media de copro es netamente inferior tanto en varones como en mujeres, y no alcanzaría los 100 hg/día aunque considerásemos que la diuresis normal se sitúa en 1500 cc/día.

- Excreción urinaria de precursores, ALA y PBG, de las porfirinas:

Al examinar los valores individuales de la concentración de precursores, ALA y PBG, en individuos normales (Tabla XVI) apreciamos una marcada dispersión que se traduce en elevadas cifras de desviación standard (Tabla XVII). Como bien reconocen - Seubert y cols. (212) estos parametros varían considerablemente en un mismo individuo en relación con la ingesta líquida, - ya que han de ser medidos en una sola muestra de orina recién emitida. En la Tabla XVIII comparamos nuestros valores medios con los obtenidos por otros autores. Los límites superiores de la normalidad se sitúan en 10,25 mg/l para el ALA y 7,15 mg/l para el PBG cifras algo elevadas no solo por la gran dispersión de valores de nuestra serie sino también por la utilización de 3 d.S. que sumamos a los valores medios.

No apreciamos diferencias estadísticamente significativas en razón del sexo ni de la edad.

- Excreción cualitativa de las porfirinas urinarias y fecales:

La cromatografía sobre capa fina nos ha permitido establecer el reparto porcentual medio correspondiente a cada carboxil-porfirina. En orina (Figura 26) comprobamos que la auténtica coproporfirina (4 COOH) es la porfirina netamente predominante mientras que la uroporfirina (octocarboxílica) representa el 15 %, la heptacarboxílica alrededor del 2 % y la tetracarboxílica menos del 1 %. El índice PCT.Urinario, ideado por E. de Salamanca y cols. (70) para valorar el grado de actividad bioquímica de los pacientes afectados de Porfiria Cutanea - Tarda, se sitúa en nuestros 219 casos en $5,84 \pm 4,02$, siendo - pues su límite superior de la normalidad ($\bar{x} \pm 3$ D.S.) de 17,9.

No detectamos en la orina de los individuos normales la

TABLA XVIII

NUESTROS Y DATOS SUPERIORES DE LA EXCRECION NORMAL DE PRECURSORES SEGUN DIVERSOS AUTORES

AUTORES	Nº casos	ALA	mg/100 ml mmol/ l	PBG
Moore y cols. (166 bis)	50	0,28 ± 0,19	0,08 ± 0,06	
Brodie y col. (18)	—	< 44	< 25	
Mustajoki y Koskelo (168)	30	1,90 ± 0,91	mg/24 h	2,20 ± 0,71
Taddeini y Watson (229)	—	< 5		< 4
Lamberg y cols. (145)	—	< 3,9		< 3,4
Haeger (103 bis)	50	3,05 ± 1,33	mg / l	1,05 ± 0,46
Nuestros resultados	60	3,20 ± 2,35		1,08 ± 2,08

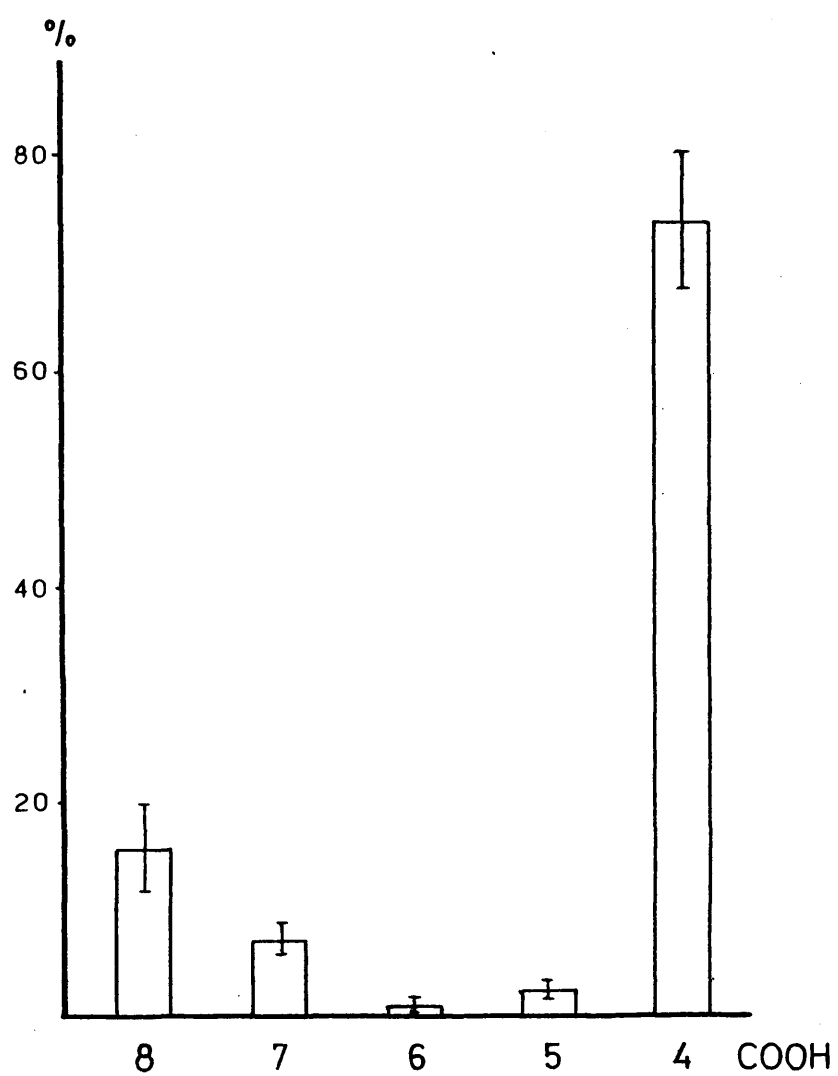


FIGURA 26.- PATRON CROMATOGRAFICO PORCENTUAL DE LAS PORFIRINAS URINARIAS EN 219 INDIVIDUOS NORMALES

presencia de Oxo y desetil-isocoproporfirinas. Tales porfirinas pertenecen también a la serie P de Elder (54) y su demostración en la orina de pacientes con PCT (221) (184) y de ratas con porfiria inducida por HCB (73) constituye un rasgo característico aunque de escasa cuantía. Los valores porcentuales medios de oxo y desetil-isocoproporfirinas urinarias en 58 de nuestros pacientes porfiricos sólo representaron $0,24 \pm 0,37\%$ y $0,66 \pm 0,83\%$ respectivamente (184).

Subdividida esta casuística en razón de la edad (tablas X, XI, XII y XIII) no se observan diferencias estadísticamente significativas, tal como se refleja en la figura 27. Sin embargo al tener en cuenta el sexo comprobamos (Tablas X, XI, XII y XIII y Figura 28) que las mujeres presentan una mayor eliminación porcentual de porfirina octocarboxílica y especularmente - un menor porcentaje de tetracarboxílica. Al tener en cuenta - también la edad apreciamos (Figura 29) que el perfil excretorio de las porfirinas urinarias es enteramente similar en ambos sexos en los individuos menores de 21 y mayores de 60, - mientras que las diferencias son notorias fundamentalmente entre los 21 y los 40 años (Figura 30). Entre los 41 y 60 años los varones muestran unos porcentajes de 4 COOH discretamente superiores a los de las mujeres, pero al subdividir nuestra casuística por décadas (Tablas X y XI) no apreciamos diferencias estadísticamente significativas entre los parametros cromatográficos de ambos sexos en las décadas comprendidas entre 41 - 50 y 51 - 60 años. En cambio los valores porcentuales de 8 COOH y 7 COOH son estadísticamente inferiores a los de las mujeres en las décadas comprendidas entre 21 y 30 y entre 31 y 40 años, é pocas son las que las mujeres presentan especularmente valores más bajos de 4 COOH y consecuentemente índices urinarios PCT -

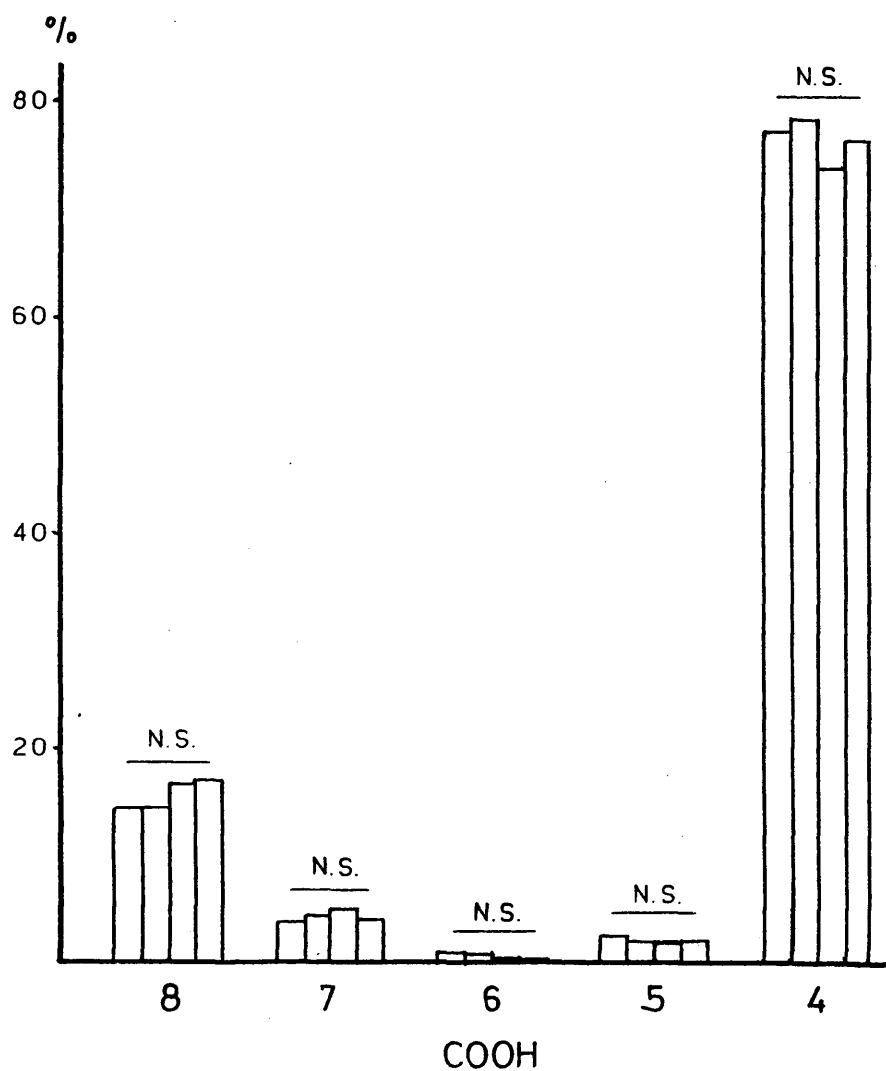


FIGURA 27.- PATRON CROMATOGRAFICO PORCENTUAL DE LAS PORFIRINAS URINARIAS EN 219 INDIVIDUOS NORMALES, COMPARANDO POR EDADES (0-20, 21-40, 41-60 Y >60)

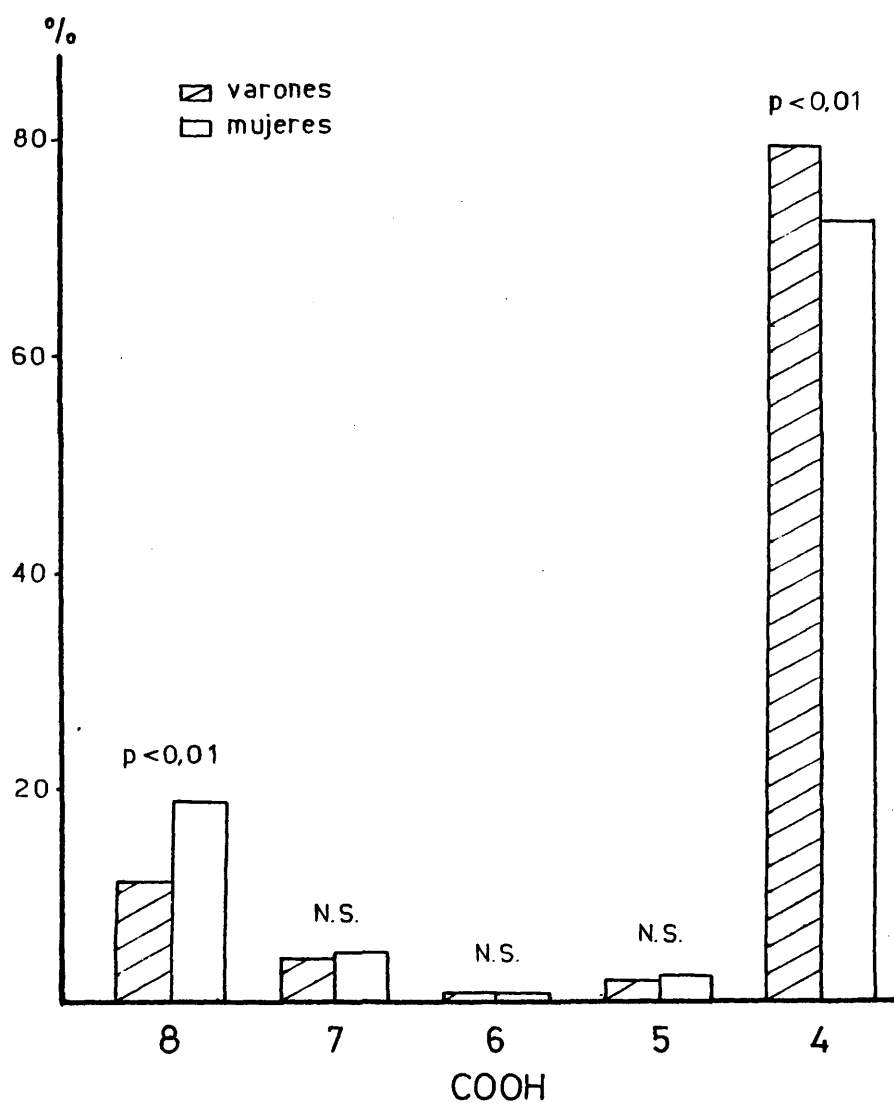


FIGURA 28.- PATRON CROMATOGRAFICO PORCENTUAL DE LAS PORFIRINAS URINARIAS EN INDIVIDUOS NORMALES, COMPARANDO SEXOS.

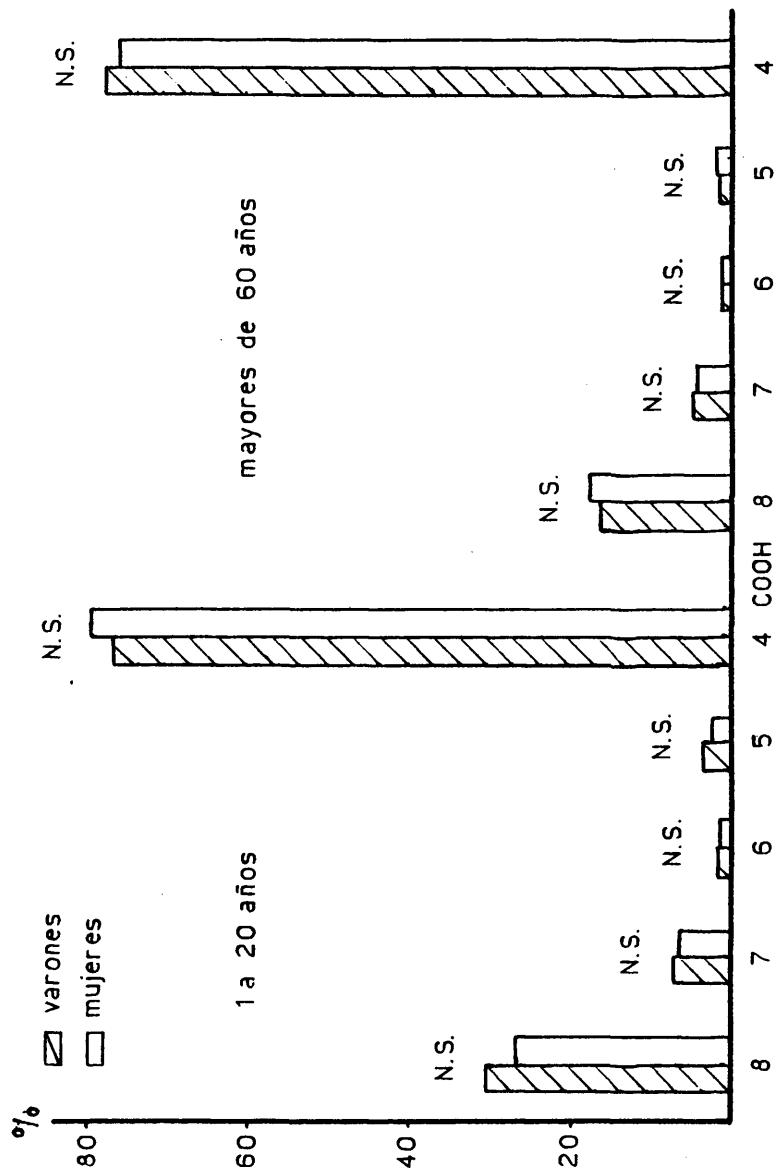


FIGURA 29.- PATRON CROMATOGRAFICO PORCENTUAL DE LAS PORFIRINAS URINARIAS EN INDIVIDUOS NORMALES EN DOS GRUPOS DE EDADES : MENORES DE 20 AÑOS Y MAYORES DE 60

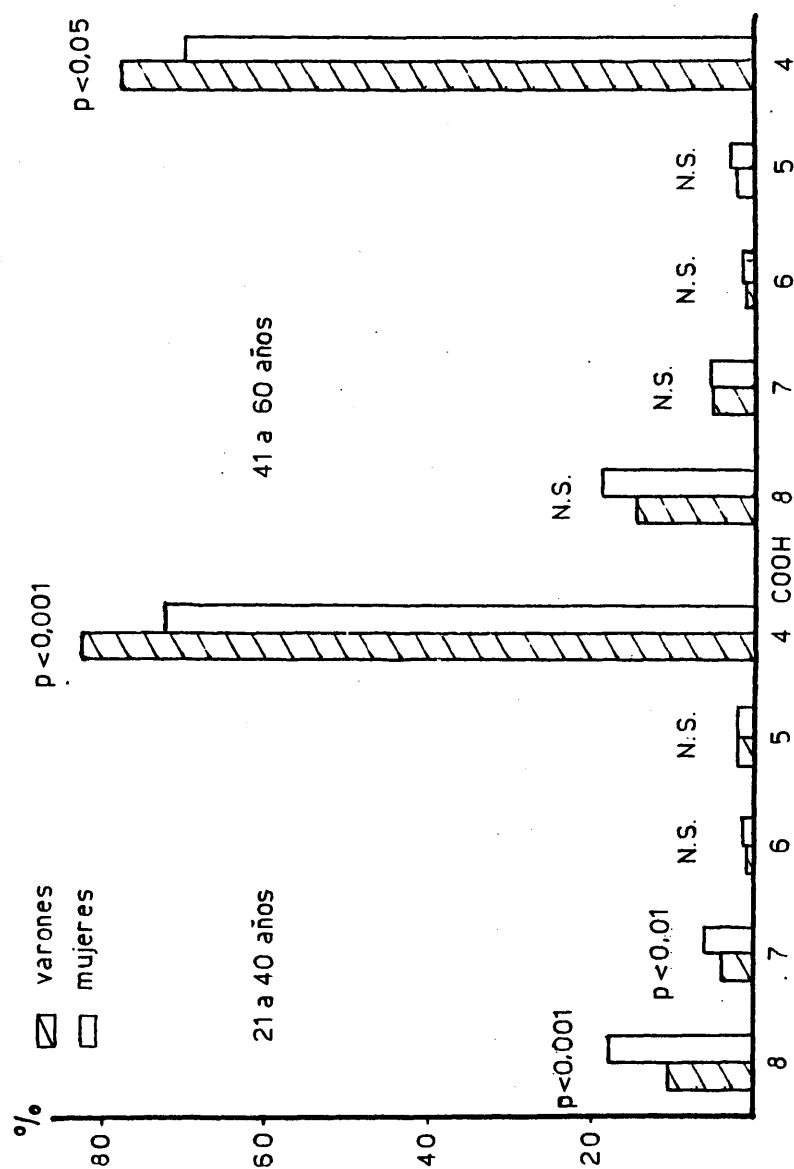


FIGURA 30.- PATRON CROMATOGRAFICO PORCENTUAL DE LAS PORFIRINAS URINARIAS EN INDIVIDUOS NORMALES EN DOS GRUPOS DE EDADES: 21-40 AÑOS Y 41-60 AÑOS

superiores.

El distinto perfil excretorio en razón del sexo durante la época más fértil de la vida bien podría pues ser interpretado como debido a factores hormonales, pero considerando tanto las variaciones de las hormonas sexuales masculinas como las de las femeninas. Kushner y cols. (48) refirieron que la actividad del enzima uroporfirinógeno decarboxilasa eritrocitario era en individuos normales inferiores en las mujeres que en los hombres, y que los varones tratados con altas dosis de estrógenos por carcinoma de próstata mostraban tasas similares a las de las mujeres. Si recordamos que este enzima es el encargado de la descarboxilación secuencial del uroporfirinógeno octocarboxílico hasta el coproporfirinógeno tetracarboxílico, los hallazgos de Kushner y cols. (48) constituirían una lógica explicación de las diferencias ya comentadas del perfil excretorio de las porfirinas en razón del sexo y de la edad. Pero ni Elder y cols. (63), Felsner y cols. (79) ni De Verneuil y cols. (41) han comprobado diferencias significativas en la actividad de la UROgenosa-D eritrocitaria entre hombres y mujeres normales.

Varones y mujeres evidencian entre los 10 y 50 años de edad notables diferencias en las tasas de hormonas sexuales -- (226), aunque hoy en día se considera que las diferencias sexuales se deben más que a los distintos niveles hormonales al efecto de dichas hormonas sobre los receptores (Prof. Botella: comunicación personal). De todas formas las variaciones hormonales no parecen influir a corto plazo en la excreción porfirínica. A este respecto Arnalich (3) en su tesis doctoral ha encontrado modificaciones significativas de la excreción porfirínica a lo largo del ciclo menstrual de la mujer, durante el que las oscilaciones hormonales son muy ostensibles. Moore y cols. (166)

en cambio evidenciaron oscilaciones cíclicas en la actividad del ALA-S y en la porfirinosíntesis de la glándula Harderiana durante el ciclo menstrual del hamster. Brodie y Goldberg (21) refieren que la actividad leucocitaria de la ALA-S medida a lo largo del ciclo menstrual de la mujer muestra un incremento - justamente antes de la menstruación. Es posible que la eliminación urinaria de precursores, ALA y PBG pueda reflejar las mencionadas modificaciones hormonales.

En la figura 31 representamos la evolución de los valores medios de las diversas carboxilporfirinas urinarias según la edad considerando independientemente ambos sexos. De esta forma podemos apreciar que entre los 21 y 40 años de edad los valores porcentuales de 8 y 7 COOH disminuyen en los varones mientras que se incrementan en las mujeres, comportandose la porfirina tetracarboxílica de forma especular (Tabla XII).

Considerando pues independientemente el patrón distributivo de las porfirinas urinarias los límites superiores de la normalidad del índice urinario PCT quedad fijados en 17,12 para - los varones y 18,46 para las mujeres. Los valores medios de dicho índice no llegan a alcanzar significación estadística (Tabla IX) al comparar el de los varones frente al de las mujeres.

En el estudio del reparto porcentual de las carboxil porfirinas excretadas por heces no se apreciaron diferencias en - razón del sexo (Figura 32 y Tabla IX). Al tener en cuenta también la edad (Figura 33 y tablas X, XI, XII y XIII) unicamente se detectaron pequeñas oscilaciones, concretamente en la porfirina penta carboxílica de las mujeres. Al considerar conjuntamente ambos sexos (Figura 34) el perfil cromatográfico fué similar en los 4 subgrupos de edad considerados. Por tanto en la Figura 35 expresamos los valores porcentuales medios de las -

carboxíl porfirinas fecales en el conjunto de nuestros 176 casos estudiados. Pequeñas cantidades de porfirinas con 5 a 8 - grupos carboxílicos están presentes en las heces de los individuos normales. Sus valores medios quedaron especificados en la tabla IX, siendo el de la P_1 de 0,03 %, porfirina esta que únicamente pudo ser detectada en muy escasos cromatogramas.

El límite superior de la normalidad ($\pm 3 D.S$) del índice fecal PCT se sitúa en 5,62.

Resulta realmente sorprendente la escasez de referencias bibliográficas acerca del patrón distributivo de las diversas carboxíl-porfirinas excretadas en circunstancias normales. Respecto al patrón urinario hemos confeccionado la Tabla XIX. Ni Chu y Chu (29) (que emplea cromatografía sobre columna Hyflo) ni Doss (47), ni Elder (61) (que usan CCF) indican en sus publicaciones en cuantos casos basan sus resultados. Mediante electroforesis sobre acetato de celulosa Más y cols. (160) en nuestro grupo de trabajo no fueron capaces de cuantificar más que trazas de las porfirinas penta y hexacarboxílicas y mínimos porcentajes de hepta, sin duda debido a la escasa sensibilidad de tal metódica. Smith y cols. (222) analizaron sendos - pools de 7,5 l y 20 l de orina de individuos normales. Sobre este segundo pool estudiaron la composición isomérica de las porfirinas hallando que los porcentajes del isómero III eran de - 23,2 %, 84,1 %, 87,1 %, 75,1 % y 55,7 % para las octo, hepta, hexa, penta y tetracarboxílicas respectivamente. También Borup y cols. (15) comprobaron en un pool de 400 l de orina normal que las porfirinas penta, hexa y heptacarboxílicas urinarias eran muy predominantemente del isómero III, que representaba el 70 % de la Copro (4 COOH) y sólo en cambio el 10 % de la Uro (8 COOH).

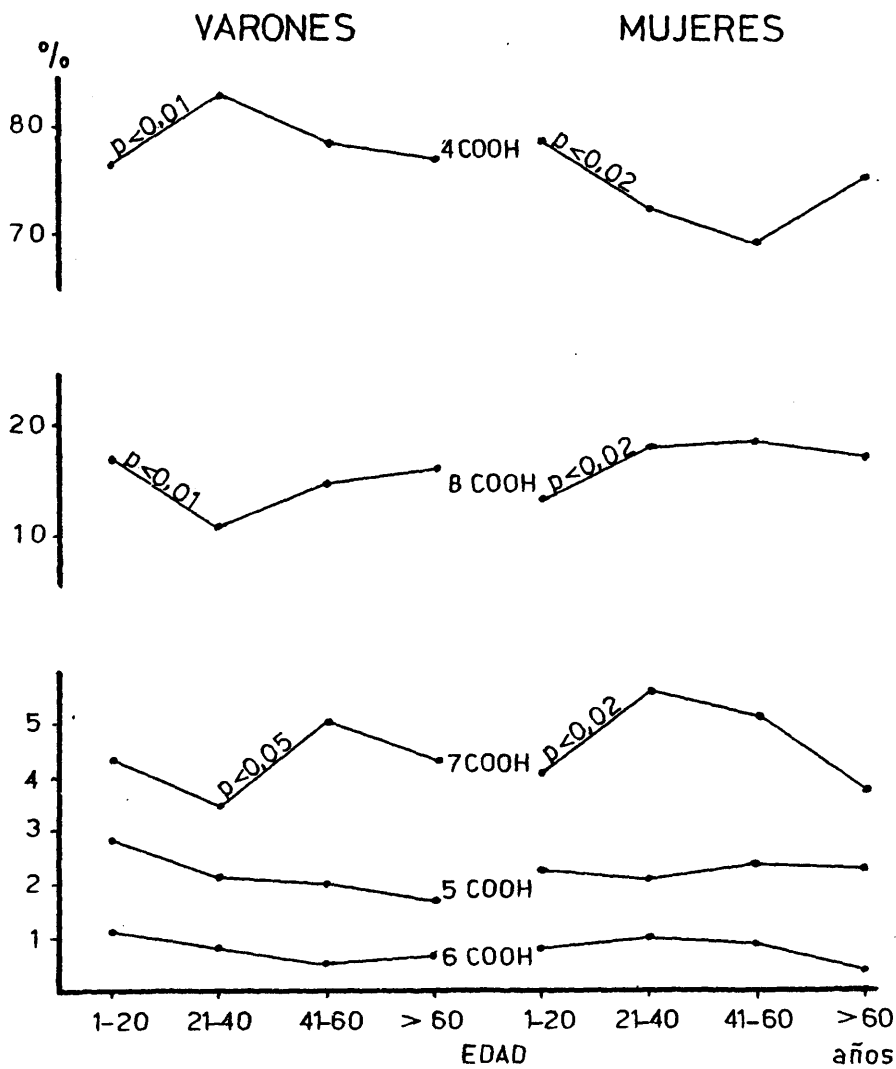


FIGURA 31.- PATRON CROMATOGRAFICO PORCENTUAL DE LAS PORFIRINAS URINARIAS EN INDIVIDUOS NORMALES SEGUN SEXOS Y GRUPOS DE EDADES.

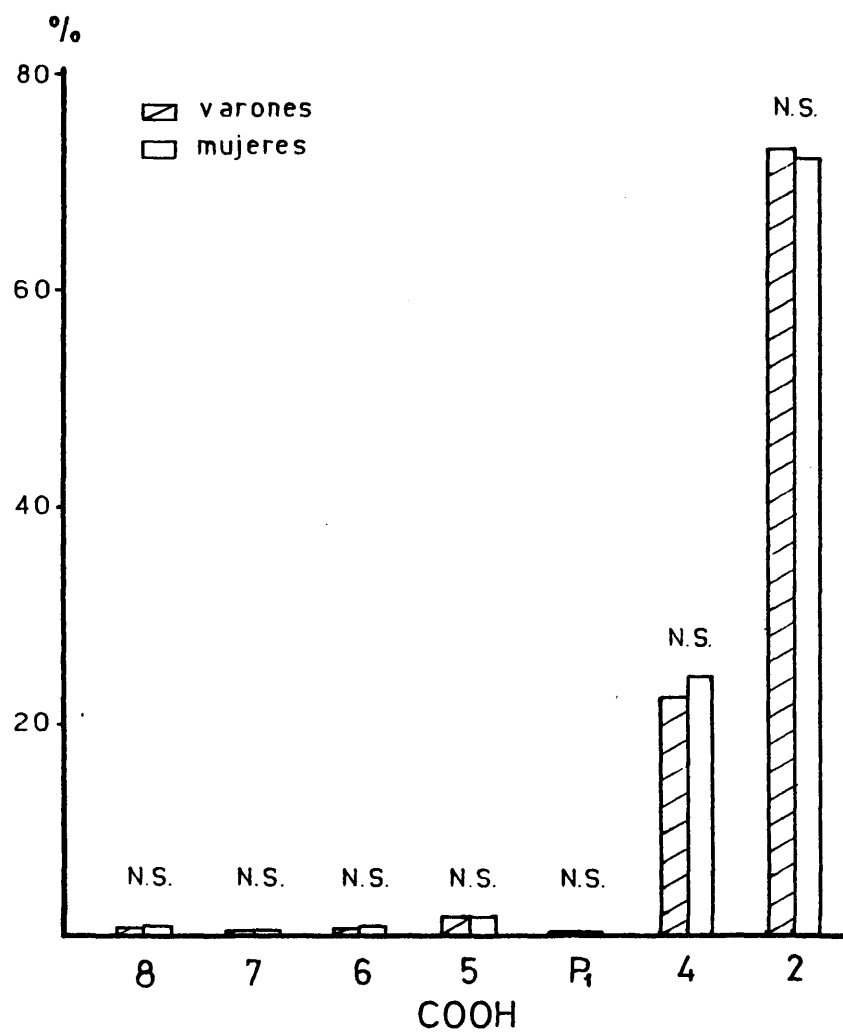


FIGURA 32.- PATRON CROMATOGRAFICO PORCENTUAL DE LAS PORFIRINAS FECALES COMPARANDO SEXOS

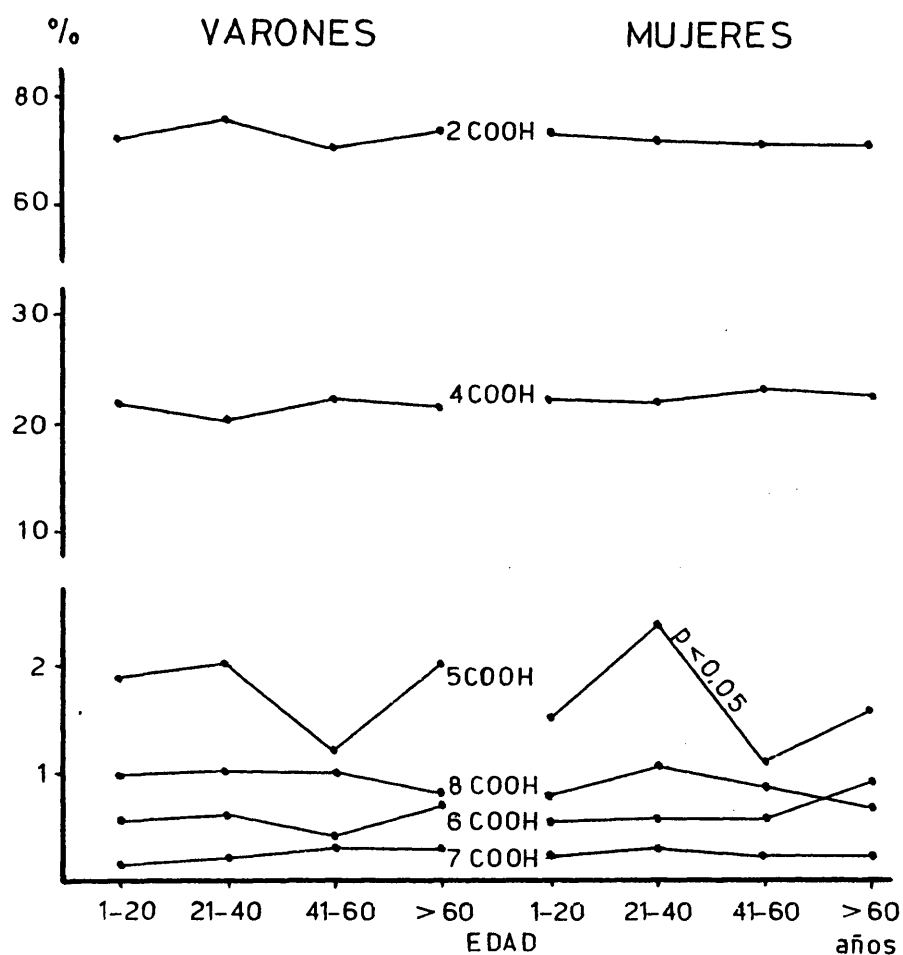


FIGURA 33.- PATRON CRÓMATOGRAFICO PORCENTUAL DE LAS PORFIRINAS FECALES EN INDIVIDUOS NORMALES SEGUN SEXOS Y GRUPOS DE EDAD

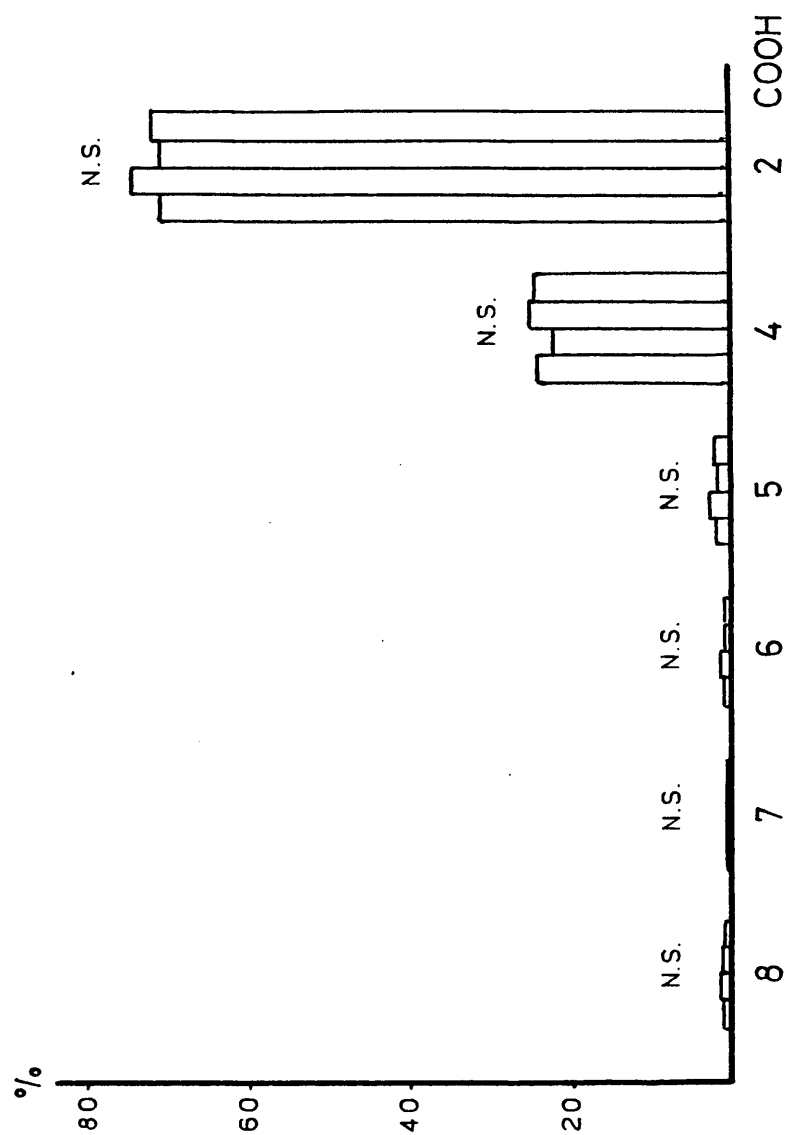


FIGURA 34.- PATRON CROMATOGRAFICO PORCENTUAL DE LAS PORFIRINAS FECALES EN 176 INDIVIDUOS NORMALES, COMPARANDO POR EDADES (0-20, 21-40, 41-60 Y > 60 AÑOS)

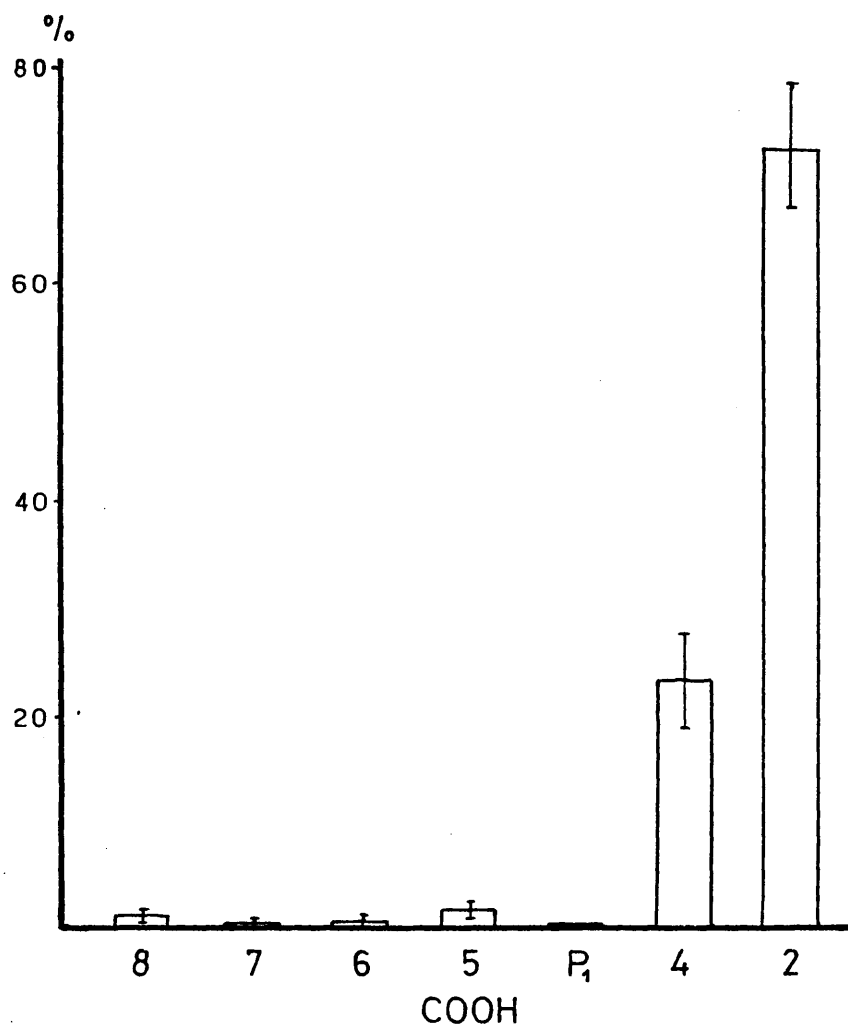


FIGURA 35.- PATRON CROMATOGRAFICO PORCENTUAL DE LAS PORFIRINAS FECALES EN 176 INDIVIDUOS NORMALES

TABLA XIX
PATRON NORMAL DE EXCRECION URINARIA DE PORFIRINAS SEGUN DIVERSOS AUTORES

AUTORES	Nº casos	COOH			
		8	7	6	4
Chu y Chu (29)	?	4,00	tr	tr	tr
Doss (47)	?	<18,18	<2,42	<1,82	<3,64
Elder (61)	?	15,00	1,00	<1,00	2,00
Más y cols. (160)	20	5,14 ± 4,07	0,26 ± 0,62	tr	tr
Smith y cols. (222)	pool 7,5	9,10	3,30	0,80	1,70
	pool 20	15,2	3,40	1,0	1,6
	pool 400	15,00	3,00	1,20	5,00
Day y Eales (39)	36	5,89	0,30	0,15	0,15
Nuestros resultados	219	15,32 ± 8,15	4,48 ± 2,82	0,84 ± 1,20	2,25 ± 2,05
					76,77 ± 11,70

Tr = trazas

Tamroco la escuela sudafricana (39) presentan un específico protocolo del patrón cromatográfico normal. En base a sus - datos sobre eliminación media de Copro, Uro y Proto y sobre los límites de la normalidad de las otras porfirinas hemos podido calcular un reparto porcentual aproximado.

Piñol Aguadé y cols. (177) analizan 20 orinas normales pero sin cuantificar sus resultados obtenidos tras el penoso procedimiento de eluir las manchas cromatográficas. Estos autores se limitan a referir que en 3 casos sólo apreciaron Copro, que en 7 Copro>>Uro, en 6 Copro>>Uro>hepta, y que en los otros 4 Copro>>Uro>hepta>penta = hexa. Reconocen que no han llegado a establecer el patrón excretorio normal en heces en donde unicamente a veces detectan, además de Copro y Proto, porfirinas con 8, 7, 6 y 5 grupos COOH. Similares resultados expone With en 1975 (249) tras estudiar 10 muestras fecales normales. Perrot y cols. (176) sólo observan Copro y Proto en los cromatogramas de sus 5 controles.

Respecto al patrón fecal hemos confeccionado la Tabla XX. A partir de los datos (en $\mu\text{g/g}$ seco) proporcionados por Doss (46) y por Day y Eales (39) calculamos los valores porcentuales correspondientes a cada carboxilporfirina, tal como queda expresado en la Tabla XX Grosser y Eales (102) en 1975 obtuvieron un valor porcentual medio de 17,6 % para la porfirina octo carboxílica fecal, dato este sorprendentemente elevado. Con una similar técnica cromatográfica, aunque ya más perfeccionada, el mismo Eales junto con Day en 1980 (39) sólo aprecia un 0,29 % de esta porfirina.

Como ya mencionábamos anteriormente, en la bilis y en el meconio el cociente CP/PP es muy bajo al contrario de lo que - habitualmente se aprecia en heces (86), lo cual traduce el ma-

TABLA XX

PATRON NORMAL DE EXCRECION FECAL DE PORFIRINAS SEGUN DIVERSOS AUTORES

AUTORES	Nº casos	COCH				
		8	7	6 %	5	4
Doss (46)	7	4,58	1,53	0,76	2,29	18,32
Grosser y Eales (102)	23	17,60	1,00	0,90	0,70	8,00
Day y Eales (39)	21	0,29	0,29	0,15	0,29	25,52
Nuestros resultados	176	1,01 1,42	0,23 0,36	0,62 0,82	1,74 1,85	23,52 9,01
						72,51 10,94

yoritario origen exógeno de la proto. En el intestino los grupos vinílicos de la proto son transformados en sustituyentes e tílicos e hidrílicos y por tanto en las heces se detectan una serie de porfirinas dicarboxílicas (meso, deuterio, pemptoporfirinas) además de la proto pero que emigran cromatográficamente juntas a no ser que se empleen técnicas especiales (11) (109). Evans y cols. (74) analizando mediante cromatografía líquida - de alta presión las bandas que tras cromatografía en capa fina habían emigrado como proto, observaron la presencia en las migmas de un tercer componente, además de la proto y mesoporfirinas que podría ser un ester mono-vinil--monoetil de la deuterio porfirina, metabolito este intermediario en la reducción bacteriana intestinal de proto en meso porfirina. Estas porfirinas derivadas de la degradación de la proto no se encuentran ni en bilis ni en meconio (86) en donde se detecta la presencia de una porfirina monoacrílica-tripropiónica denominada S-411 por su espectro que es de tipo rhodoporfirina (218) (128), y que es un dehidroderivado de la copro III.

Los metil-esteres de la meso y copro disueltos en cloroformo pueden formar, a los tres días de su almacenamiento, complejos metálicos ya que la acidez residual del solvente puede disolver mínimas cantidades de cobre del material instrumental (74). Estos complejos metálicos muestran una migración cromatográfica ligeramente más adelantada que sus correspondientes porfirinas no quelatadas. La problemática del estudio de las porfirinas fecales se ve agravada por el hecho de que la Uro, polycarboxílica, puede requerir para su completa esterificación hasta 36 horas, tiempo este en el que la proto puede comenzar a descomponerse si no se toman las debidas precauciones para excluir la exposición a la luz y al aire (74).

Se admite que la presencia en las heces de porfirinas clorofílicas no contamina, merced a su elevado n° ClH, las fracciones Copro y Proto obtenidas por los clásicos métodos de extracción y partición solvente. Sin embargo, algunas porfirinas clorofílicas poseen n° ClH tan bajo como las de la deuterio (0,35) y mesoporfirina (0,6) y por otra parte aunque sean tan altos - como el de la filioeritrina (7,0) pueden ser extraídas del éter con ClH al 5 % si se encuentran en grandes cantidades (86). Como bien reconoce Elder (60) al esterificar directamente las heces pueden aparecer en los cromatogramas gran cantidad de pigmentos tipo clorina, originados del material vegetal de la dieta. Chu y Chu (29) observaron clorinas di y tricarboxílicas en heces y en las fotos de los cromatogramas de With (249) y de - Elder (64) se ven en las muestras fecales tanto de individuos normales como de porfíricos manchas fluorescentes, a veces en notable cantidad, en posición intermedia entre las porfirinas di y tricarboxílicas y que obviamente no corresponden a tricarboxílicas. Quizá por esta razón Elder (61) al considerar el reparto porcentual de las diversas carboxilporfirinas fecales en individuos normales omite las porfirinas di y tricarboxílicas. Muy frecuentemente nosotros hemos apreciado también la presencia de pigmentos fluorescentes fecales con un Rf similar al de las porfirinas di y tricarboxílicas. Tras su elución con cloriformo comprobamos que su espectro de absorción es claramente δ tipoclorina y más concretamente muy similar al de la feofitina (78) como ya expusimos en nuestra tesina de licenciatura (174). Sin embargo en nuestra casuística estas posibles porfirinas - clorofílicas y las di y tricarboxílicas han quedado todas ellas consideradas como dicarboxílicas, ya que tanto la proto como δ las otras porfirinas con sustituyentes vinílicos a menudo su-

fren fotooxidación transformándose en pigmentos verdes que poseen un espectro tipo clorinas (118).

- Otros estudios estadísticos:

El estudio de las correlaciones entre los diversos parámetros de excreción cuanti y cualitativa no nos aportó datos de especial interés, ya que los coeficientes hallados (Tabla XIV) fueron notoriamente lejanos a la unidad.

- Estudio del ritmo nictameral de la excreción de porfirinas y su posible relación con las variaciones del pH:

Vannotti (235) describió en 1974 la existencia de una variación nictameral en la eliminación porfirínica urinaria, tras comprobar que durante el día es mayor la porfirinuria. Tales diferencias en opinión de Bourke y cols (16) son debidas a variaciones en el pH urinario. Estos últimos autores estudiaron la eliminación urinaria de Copro y Uroporfirina en 5 individuos (3 normales y 2 pacientes con PCT) recogiendo la orina en periodos de 2 horas observaron una correlación significativa entre el pH urinario y la excreción de Copro, aunque no con la de Uro. La eliminación de Copro fué menor durante la noche debido en parte a que la orina es más ácida en ese momento. Basados en estas consideraciones Wuegang y cols. (243) preconizaron el tratamiento de la PCT mediante alcalinización metabólica, ya que la elevación del pH urinario incrementaba la eliminación de coproporfirina tras dificultar su reabsorción en el túbulo distal.

Hemos estudiado la excreción cuanti y cualitativa de porfirinas urinarias en periodos de 8 horas en 3 individuos normales y en 2 pacientes con PCT, uno de ellos con mínima uropor

firinuria. En las tabla XXI quedan reflejados los resultados - obtenidos. A pesar de ser estos individuos voluntarios mostraron sinceros deseos de colaboración en las Figuras 36 y 37 expresamos la porfirinuria únicamente en $\mu\text{g/g}$ creatinina para - tratar de obviar posibles y probables defectos en la recogida exacta de la diuresis. Como puede apreciarse en las citadas Figuras las variaciones nictamerales de la Coproporfirina son irregulares y las oscilaciones del pH mínimas. Sin embargo tras la individualización cromatográfica de las carboxilporfirinas urinarias (Figuras 38 y 39) que efectivamente la auténtica 4 COOH, se excreta en menores proporciones durante la noche en - dos de los 3 individuos normales y en uno paciente porfírico.

Schwartz y cols. (205) comprobaron la existencia de un - ritmo circadiano en la excreción urinaria de porfirinas en ratas y Wolkhandt y Hardeland (255) observaron que la actividad de la ALA-S hepática de ratas exhibía un ritmo diurno con un - máximo durante la noche. Al menos en estos animales la luz ejerce una clara influencia sobre el metabolismo porfirínico hepático (125).

Sinceramente creemos que nuestros resultados no son concluyentes. Para aclarar si las posibles variaciones nictamerales en la excreción porfirínica urinaria son únicamente o al - menos en gran parte debidas a modificaciones del pH urinario - debieramos quizá provocar intensas modificaciones de este último parámetro y analizar simultaneamente la excreción porfirínica. Enríquez de Salamanca y cols. (67) únicamente apreciaron evidentes incrementos de la porfirinuria durante los primeros - días de la administración de altas dosis de bicarbonato sódico en pacientes con PCT.

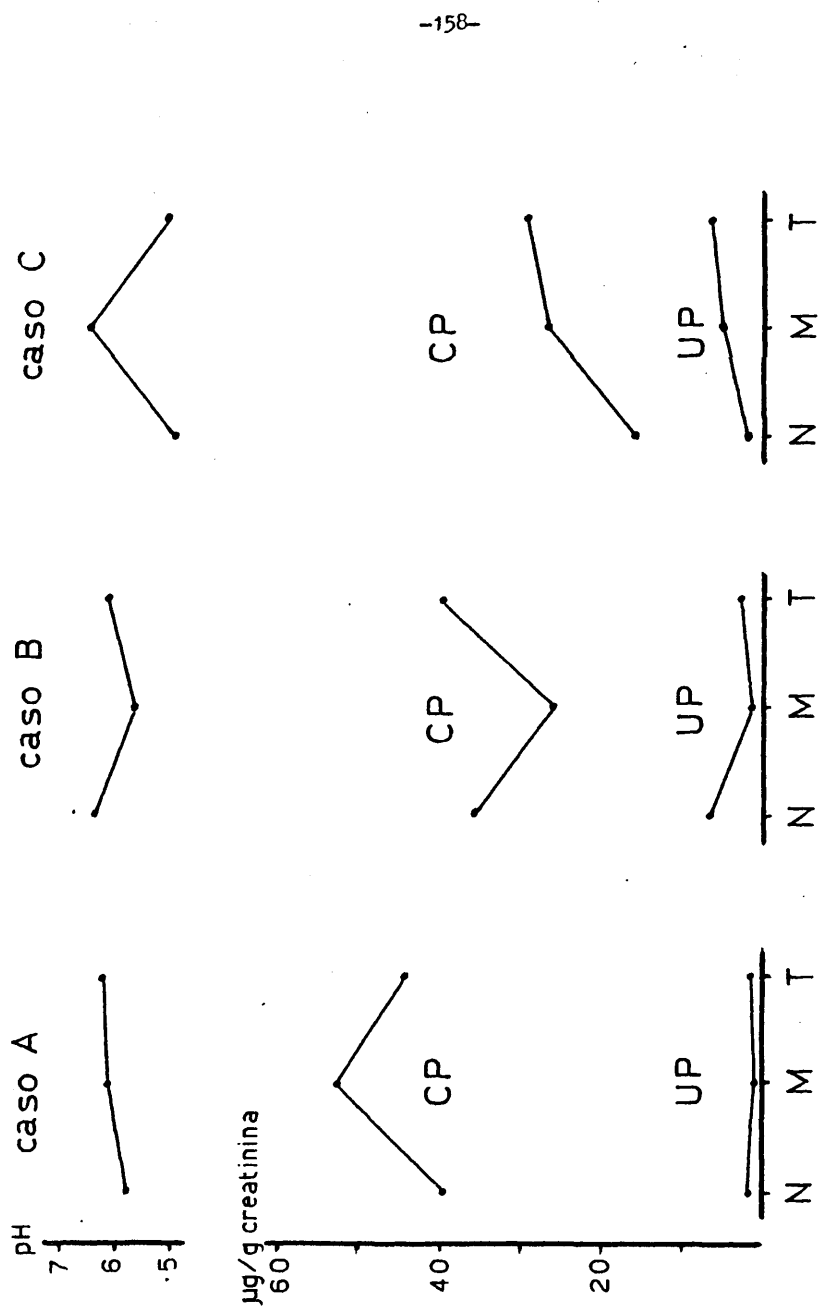


FIGURA 36.- VARIACIONES EN EL PH URINARIO Y EN LA EXCRECION DE COPRO Y UROPORFIRINAS EN TRES PERIODOS: N = NOCHE, M = MAÑANA Y T = TARDE, EN TRES INDIVIDUOS NORMALES.

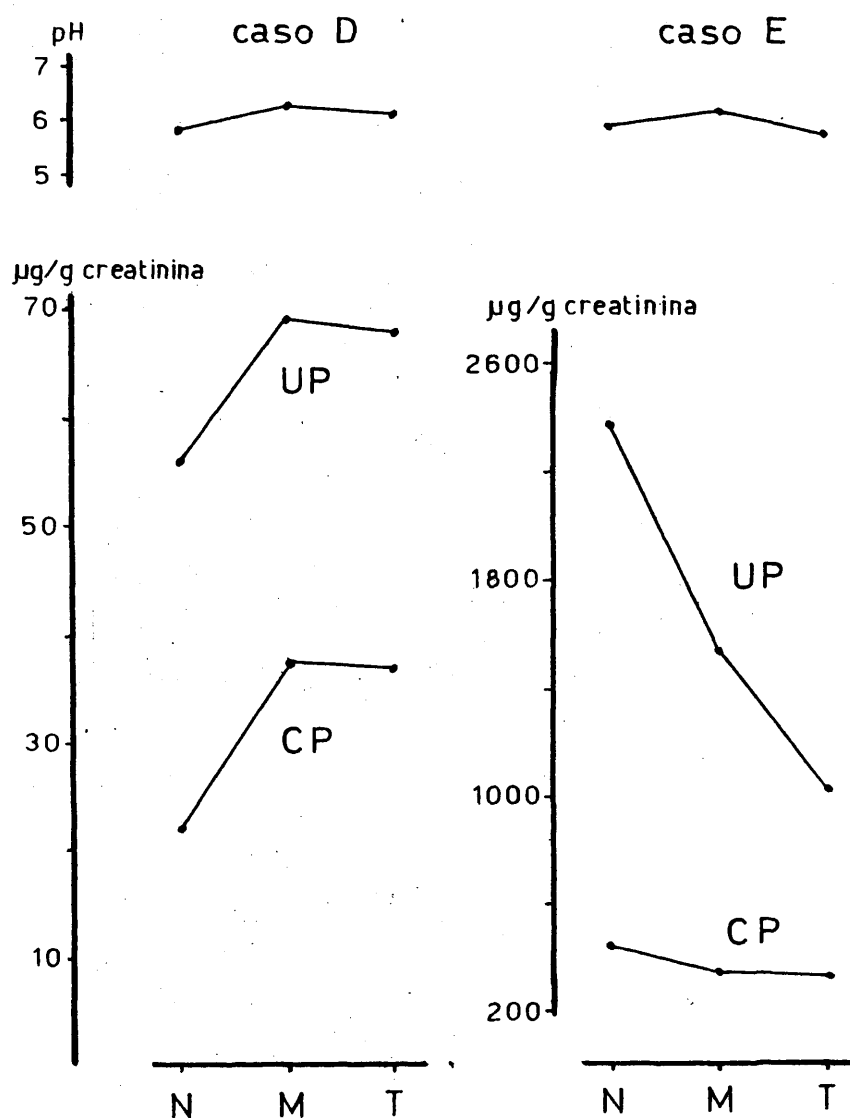


FIGURA 37.- VARIACIONES EN EL PH URINARIO Y EN LA EXCRECION DE COPRO Y UROPORFIRINAS EN TRES PERIODOS: N = NOCHE, M = MAÑANA Y T = TARDE, EN DOS PACIENTES CON P.C.T.

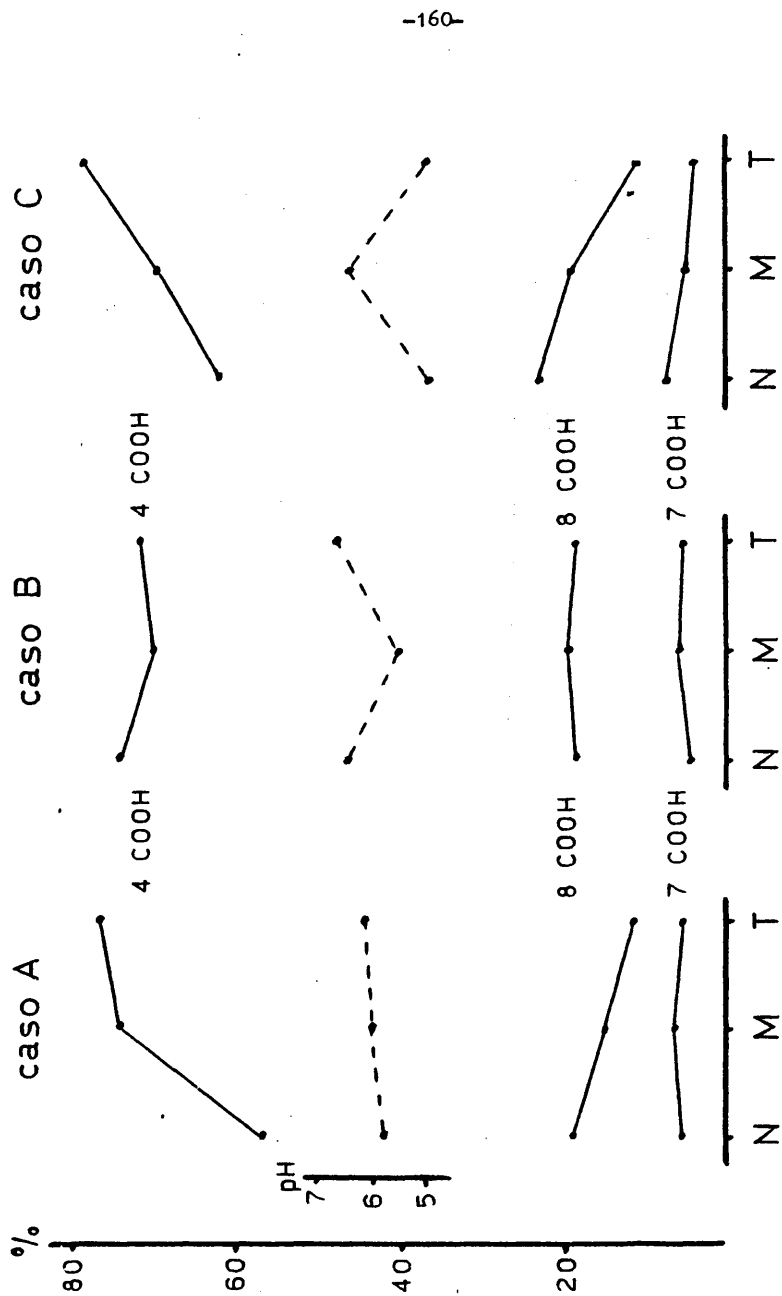


FIGURA 38.- VARIACIONES EN EL PH URINARIO Y EN EL REPARTO PORCENTUAL DE ALGUNAS CARBOXILPORFIRINAS EN TRES PERIODOS: N = NOCHE, M = MAÑANA Y T = TARDE, EN TRES INDIVIDUOS NORMALES

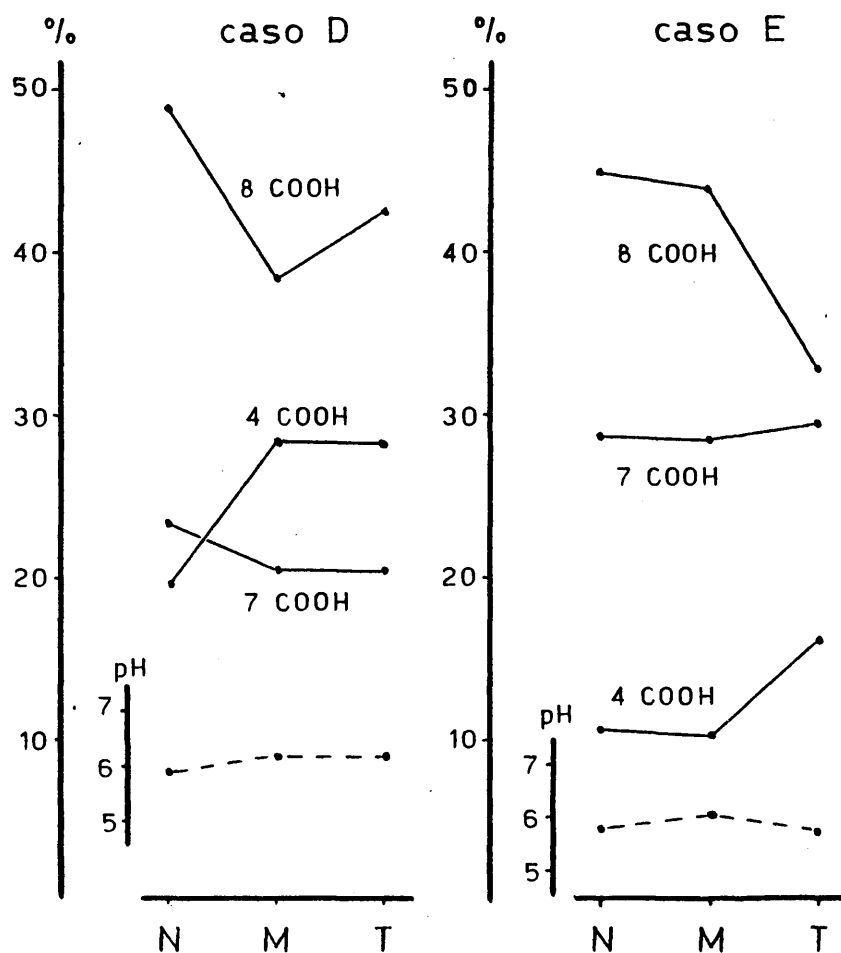


FIGURA 39.- VARIACIONES EN EL PH URINARIO Y EN EL REPARTO PORCENTUAL DE ALGUNAS CARBOXILPORFIRINAS EN TRES PERIODOS: N = NOCHE, M = MAÑANA Y T = TARDE, EN DOS PACIENTES CON P.C.T.

VII.- CONCLUSIONES

- 1.- La excreción cuantitativa de las fracciones Uro, Copro y - Protoporfirina fué en nuestra experiencia:

<u>Orina</u>	COPRO $\mu\text{g}/\text{l}$	URO	PROTO $\mu\text{g}/\text{g}$ seco
n = 219	51,00 \pm 27,50	3,90 \pm 3,68	

Heces

n = 176	9,29 \pm 8,00	30,83 \pm 23,77
---------	-----------------	-------------------

Límites superiores de la normalidad ($\bar{x} \pm 3 \text{ D.S.}$) quedan fijados en:

<u>Orina</u>	COPRO $\mu\text{g}/\text{l}$	URO	PROTO $\mu\text{g}/\text{g}$ seco
	133,50	14,94	

Heces

33,29	102,14
-------	--------

- 2.- La excreción urinaria de porfirinas mostro diferencias estadísticamente significativas según el sexo:

<u>Orina</u>	COPRO	URO
Varones	59,97 \pm 28,14	4,53 \pm 3,86
n = 103	t = 4,76	t = 2,14
	p < 0,001	p < 0,05

Mujeres	43,09 \pm 24,43	3,48 \pm 3,46
---------	-------------------	-----------------

No se apreciaron diferencias estadísticamente significativas por sexos en la eliminación de las fracciones fecales Copro y Proto.

- 3.- La concentración urinaria y límites superiores de la normalidad de los precursores ALA y PBG fueron los siguientes:

n = 60	ALA mg/l	PBG
	3,20 \pm 2,35	1,08 \pm 2,02

Límite sup:

10,25	7,14
-------	------

- 4.- La individualización cromatográfica de las diversas carboxil porfirinas urinarias reveló que las mujeres muestran unos valores porcentuales medios superiores de porfirina octocarboxílica e inferiores de porfirina tetracarboxílica - que los varones.

Al subdividir nuestro protocolo en razón de la edad y el sexo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el patrón cromatográfico urinario entre varones y mujeres de los grupos comprendidos entre los 0 y 20 años y los mayores de 60. En cambio en el grupo de edad de 21 a 40 años, las mujeres evidenciaron valores porcentuales mayores de las porfirinas más policarboxílicas. Mientras que especularmente el valor porcentual de la 4 COOH -fué inferior al de los varones. Tales diferencias en la época hormonalmente más fértil de la vida son debidas tanto al descenso de los porcentajes de dichas porfirinas policarboxílicas que evidencian los varones, como al incremento de las mismas que muestran las mujeres.

- 5.- El perfil cromatográfico de las carboxíl porfirinas fecales no se vio estadísticamente influenciado por razón del sexo ni de la edad.
- 6.- No obtuvimos conclusiones definitivas sobre la posible oscilación nictameral en la excreción urinaria de porfirinas.

-164-

VIII .- BIBLIOGRAFIA

- 1- Alcira Batlle, M.C. y Rossetti, M.V.- Enzymic polymerization of porphobilinogen into uroporphyrinogens.- *Int. J. Biochem.* 8:251, 1977
- 2- Al-Hazimi, H.M.G., Jackson, A.H., y Ryder, D.G.- *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* p 188, 1976, citado por: Dolphin, *The Porphyrins* Academic Press, N. Y., 1979.
- 3- Arnalich, F.- Alteraciones excretorias de las porfirinas en los trastornos de la secreción biliar. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid, Oct. 1977.
- 4- Arnalich, F., Enriquez de Salamanca, R., Catalan, T., Mas, V., y García Puig, J.- Alteraciones del balance excretorio coproporfirina urinaria/coproporfirina fecal en algunas situaciones colestáticas.- *Rev. Clin. Esp.* 155:13, 1979
- 5- Arnalich, F., Enriquez de Salamanca, R., Catalán, T., Mas, V. y García, J.- Metabolismo hepático de la bromosulfoftaleína en la porfiria experimental inducida a ratas por hexaclorobenceno.- *Gastroenterología y Hepatología* 3:128, 1980
- 6- Aziz, M.A., Schwartz, S. y Watson, C.J.- Studies of coproporphyrin. VIII. Reinvestigation of the isomer distribution in jaundice and liver disease.- *J. Lab. Clin. Med.* 63:596, 1964
- 7- Aziz, M.A. y Watson, C.J.- An analysis of the porphyrins of normal and cirrhotic human liver and normal bile.- *Clin. Chim. Acta* 26:525, 1969
- 8- Aznar Reig, A. y Otero de la Gándara, J.- La fisiopatología pigmentaria de los hepáticos. A. Evolución de la coproporfirinuria y bilirrubinuria en el curso de las hepatopatías.- *Trab. Inst. Nac. Ciencias Medicas.* 2:81, 1944
- 9- Barnes, H.D.- Porphyrin in South Africa: the faecal excretion of porphyrins.- *S. Afr. Med. J.* 32:680, 1958
- 10- Batlle, A.M.C., Benson, A. y Rimington, C.- Purification

- and properties of coproporphyrinogenase.- Biochem. J. 97: 731, 1965
- 11- Belcher, R.V., Smith, S.G., Mahler, R. y Campbell, J.- The separation of free dicarboxylic acid porphyrins using thin-layer and paper chromatography.- J. Chromatog. 53:279, 1970
 - 12- Berlin, N.I., Neuberger, A., y Scott, J.J.- The metabolism of δ -aminolevulinic acid.2: normal pathways, studied with the aid of C^{14} .- Biochem. J. 64:90, 1956
 - 13- Bogorad, L.- Enzymic mechanism in porphyrin synthesis. Possible enzymatic blocks in porphyrias.- Ann. N.Y. Acad. Sci. 104:676, 1963
 - 14- Bondy, P.K. y Rosenberg, L.- Metabolic control and disease, Ed. Saunders, Filadelfia, 1980
 - 15- Borup, P., Kordac, V., Pedersen, J.S., y With, T.K.- The porphyrin pattern of normal urine.- Int. J. Biochem. 12:1075, 1980
 - 16- Bourke, E., Mouckton-Copeman, P.W., Milne, M.D., y Stokes, G.S.- Effect of urinary pH on excretion of porphyrins.- Lancet 1:1394, 1966
 - 17- Bradlow, H.L., Gillette, P.N., y Gallagher, F.- Steroid studies in porphyria. II. Evidence for a deficiency of steroid Δ^4 -5- α reductase activity in acute intermittent porphyria.- J. Exp. Med. 138:754, 1973
 - 18- Brodie, M.J., Moore, M.R., Thompson, G.G., Campbell, B.C. y Goldberg, A.- Is porphobilinogen deaminase activity a secondary control mechanism in haem biosynthesis in humans ?.- Biochem. Soc. Trans. 5:1466, 1977
 - 19- Brodie, M.J., Moore, M.R., y Goldberg, A.- Enzyme abnormalities in the porphyrias.- Lancet 2:699, 1977
 - 20- Brodie, M.J., Thompson, G.G., Moore, M.R., Beattie, A.D. y

- Goldberg, A.- Hereditary coproporphyrria. Demonstration of the abnormalities in haem biosynthesis in peripheral blood. Quart. J. Med. N.S. 46:229, 1977
- 21- Brodie, M.J. y Goldberg, A.- Acute hepatic porphyrias.- Clinics in Haematology 9:253, 1980
- 22- Brugsch, J.- Porphyrine., Leipzig Barth 1959
- 23- Burnham, B.F.- Metabolism of porphyrins and corrinoids. En: Metabolic pathways. Aminoacids and tetrapyrroles, Ed. Greenberg, Academic Press, pag. 403, 1969
- 24- Carlson, R.E. y Dolphin, D.- High pressure liquid chromatographic techniques for the separation of complex mixtures of occurring porphyrins naturally.- En: Porphyrins in Human Diseases, pág. 465, Ed. M. Doss, Karger, Basilea, 1976
- 25- CheH, A. y Neillands, J.B.- Biochem. Biophys. Res. Commun. 55:1060, 1973, citado por: Dolphin, The Porphyrins, Academic Press, N.Y., 1979
- 26- Christensen, N.G., Johannessen, B. y Romslo, I.- A rapid assay for urinary porphyrins by dual-wavelength spectrophotometric.- Clin. Chim. Acta 81:229, 1977
- 27- Christensen, N.G. y Romslo, I.- Stoll porphyrins determined by high pressure liquid chromatography and by fractional hydrochloric acid-ether extraction.- Scand. J. Clin. Lab. Invest. 39:223, 1979
- 28- Chu, T.C., Green, A.A. y Chu, E.J.- Paper chromatography of methyl esters of porphyrins.- J. Biol. Chem. 190:643, 1951
- 29- Chu, T.C. y Chu, E.J.- Porphyrin patterns in different types of porphyria.- Clin. Chem. 13:371, 1967
- 30- Coleman, D.L.- Purification and properties of α -aminolevulinic acid dehydratase from tissues of two strain of mice.- J. Biol. Chem. 241:5511, 1966.

- 31- Condie, L.W., Baron, J. y Tephly, T.R.- Studies on adrenal o-aminolevulinic acid synthetase.- Arch. Biochem. Biophys. 172:123, 1976
- 32- Conford, P.- Transformation of porphobilinogen into porphyrins by preparations from human erythrocytes.- Biochem. J. 91:64, 1964
- 33- Cookson, G.H. y Rimington, C.-Biochem. J. 57:475, 1954, citado por: Dolphin, The Porphyrins, Academic Press, N.Y. 1979
- 34- Dailey, H.A. y Lascelles, J.- Arch. Biochem. Biophys. 160: 523, 1974, citado por: Dolphin, The Porphyrins, Academic - Prees, N.Y., 1979
- 35- D'Alessandro, L. y Topi, G.C.- Osservazioni sui metodi di determinazione delle coproporfirine urinarie.- Biochimica e Biologia Sperimentale 7:173, 1968
- 36- D'Alessandro, L. y Topi, G.C.- Inadeguatezza dei metodi correntemente usati per la determinazione delle porfirine urinarie.- Bol. Ist. Dermatol. S. Gallicano 6:73, 1970
- 37- D'Alessandro, L. y Topi, G.C.- A new method for the determination of urinary porphyrins.-Clin. Chim. Acta. 49:329, 1975
- 38- Day, R., Enríquez de Salamanca, R. y Eales, L.- The use of thin-layer chromatography to study the variation in fluorescence of porphyrin methyl esters.- Clin. Chim. Acta. 89:25 1978
- 39- Day, R. y Eales, L.- Porphyrins in chronic renal failure.- Nephron. 26:90, 1980
- 40- Dehlin, O., Enerbäck, L. y Lundvall, O.- Porphyria Cutanea Tarda.- A genetic disease?.- Acta. Med. Scand. 194:265, 1973
- 41- De Verneuil, H., Aitken, G. y Nordmann, Y.- Familial and -

- sporadic porphyria cutanea two different diseases.- Hum. - Genet. 44:145, 1978
- 42- Doss, M.- Analytical and preparative thin-layer chromatography of porphyrin methyl esters.- Z. Klin. Chem. Klin. - Biochem. 8:197, 1970
- 43- Doss, M. y Schmidt, A.- Rapid determination of urinary total porphyrins by ion exchange chromatography.- Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 9:415, 1971
- 44- Doss, M.- Conversion of porphyrin methyl esters to zinc - and copper chelates for epectrophotometric analysis.- Analyt. Biochem. 39:7, 1971
- 45- Doss, M. y Schermuly, E.- Urinary porphyrin excretion pattern and isomer distribution of I and III in human porphyrin disorders.- En: Porphyrins in human diseases, pág. 189, Ed. M. Doss, Karger, Basilea, 1976
- 46- Doss, M.- Normal ranges of porphyrins and precursors in human tissue, urine and faeces.- En: Chemical Porphyric in - Man, pág. 221, Ed. Strik y Koeman, Elsevier, Amsterdam, - 1979
- 47- Doss, M.- Pathobiochemical transition of secondary coproporphyrinuria to chronic hepatic porphyrias in humans.- Klin. Wochenschr. 58:141, 1980
- 48- Dowdle, E., Goldswaine, P., Spong, N. y Eales, L.- The pattern of porphyrin isomer acumulation and excretion in symptomatic porphyria.- Clin. Sci. (oxf) 32:147, 1970
- 49- Doyle, D. y Schimke, R.T.- The genetic and developmental - regulation of hepatic o-aminolevulinate dehydratase in mice.- J. Biol. Chem. 244:5449, 1969
- 50- Druyan, R., Haager-Aronsen, B., Von, W. y Waldenström, J.-

- 51- Eales, L. y Saunders, S.J.- The diagnostic importance of - faecal porphyrins in the differentiation of the porphyrias : I, values in normal subjects and in patients with non-porphyric disorders.- S. African. J. Lab. Clin. Med. 8:127, - 1962
- 52- Eales, L., Levey, V.J.y Sweeney, G.D.- The place of screening tests and quantitative investigations in the diagnosis of the porphyrias with particular reference to variegate - and symptomatic porphyria.- S. Afr. Med. J. 40:63, 1966
- 53- Edwards, A. M. y Elliot, W.H.- Induction of δ -aminolevulinic acid synthetase in isolated rat liver cells by steroids - J. Biol. Chem. 250:2750, 1975
- 54- Elder, G.H.- Identification of a group of tetracarboxylate porphyrins, containing one acetate and three propionate β -substituents, in faeces from patients with symptomatic cutaneous hepatic porphyria and from patients with symptomatic cutaneous hepatic porphyria and from rats with porphyria - due to hexachlorobenzene.- Biochem. J. 126:877, 1972
- 55- Elder, G.H., Magnus, I.A., Handa, F. y Doyle, M.- Faecal X -porphyrin in the hepatic porphyrias.- Enzyme 17:29, 1974
- 56- Elder, G.H.- The metabolims of porphyrins of the isocoproporphyrin.- Enzyme 17:61, 1974
- 57- Elder, G.H.- Differentiation of PCT symptomatica from other types of porphyria.- J. Clin. Path. 28:601, 1975
- 58- Elder, G.H., Evans, J.O. y Matlin, S.A.- The effect of the porphyrinogenic compound , hexachlorobenzene, on the activity of hepatic uroporphyrinogen decarboxylase in the rat.- Clin. Sci. Mol. Med. 51:71, 1976
- 59- Elder, G.H.- Acquired disorders of haem synthesis.- Assays

- Med. Biochem. 2:75, 1976
- 60- Elder, G.H.- Report of the Discussions of the Symposium on Porphyrins in Human Diseases, Ed. M. Doss y P. Nawrocki pág. 177, 1976
- 61- Elder, G.H.- Porphyrin metabolism in porphyria cutanea tarda.- Semin. Hematol. 14:227, 1977
- 62- Elder, G.H., Evans, J.O., Jackson, J.R. y Jackson, A.H.- Factors determining the sequence of oxidative decarboxylation of the 2- and 4-propionate substituents of coproporphyrinogen III by coproporphyrinogen oxidase in rat liver.- Biochem. J. 169:215, 1978
- 63- Elder, G.H., Lee, G.B. y Tovey, J.A.- Decreased activity of hepatic activity uroporphyrinogen decarboxylase in sporadic porphyria cutanea tarda.- N. Engl. J. Med. 299:274, 1978
- 64- Elder, G.H.- The porphyrias: clinical chemistry, diagnosis and methodology.- Clinics in Haematology 9:371, 1980
- 65- England, M.T., French, J.M. y Rawson, A.B.- Antibiotic control of diarrhoea in Wipple's disease.- Gastroenterology 39:219, 1960
- 66- England, M.T., Cotton, W., y Franch, J.M.- Faecal porphyrin excretion in normal subjects and in patients with the malabsorption syndrome.- Clin. Sci. 22:447, 1962
- 67- Enríquez de Salamanca, R., Gomez Orbaneja, J., Catalán, M.T., y Sanchez de Paz, F.- Acción del tratamiento alcalinizante en la porfiria cutánea tarda.- Reuniones Anuales de la Cátedra de Dermatología del Prof. Gómez Orbaneja. Ed. Marthe pág. 95, 1974
- 68- Enríquez de Salamanca, R., Nas, V., y Catalán, M.T.- Porfirina X fecal en la porfiria hepatocutánea tarda.- Arch. Fac. Med. Madrid 25:127, 1974

- 69- Enríquez de Salamanca, R., Arnalich, F., Romero, F., y Jimenez, J.- Fisiopatología de la excreción de las porfirinas. - Rev. Clin. Esp. 155:7, 1979
- 70- Enríquez de Salamanca, R., Peña Payero, M.L., Olmos Andrés, A., Jimenez Sanchez, F., y Catalán, M.T.- Índice característico de la excreción urinaria de porfirinas en la porfiria cutánea tarda.- Biométrica 4:29, 1979
- 71- Enríquez de Salamanca, R., Romero García-Alix, F., Martín Alonso, A., Mas Andrés, V., Olmos Andrés, A. y Peña Payero M.L.- Índice característico del patrón excretorio fecal en la porfiria cutánea tarda.- Biométrica 4:73, 1979
- 72- Enríquez de Salamanca, R., Ladero, J., Catalán, T., Mas V. Rico, R. y Olmos, A.- Hepatic metabolism of bromosulphthalein in porphyria cutanea tarda.- Int. J. Biochem. 12:855, 1980
- 73- Enríquez de Salamanca, R., Molina, C., Catalán, T., Mas V., Vidal, I., y Chinarro, S.- Oxo y desetil-isocoproporfirinas en la porfiria experimental inducida a ratas por hexaclorobenceno.- Gastroenterología y Hepatología 4:10, 1981
- 74- Evans, M., Jackson, A.H., Matlin, S.A., y Towill, R.- High performance liquid chromatographic analysis of porphyrins in clinical materials.- J. Chromatog. 125:345, 1976
- 75- Falk, J.E., Porra, R.J., Brown, A., Moss, F., y Larmine, H. E.- Effect of oxygen tension on haem and porphyrin biosynthesis.- Nature 184:1217, 1959
- 76- Falk, J.E.- Chromatography of porphyrins and metalloporphyrins.- J. Chromatog. 5:277, 1961
- 77- Falk, J.E. y Porra, R.J.- The effect of oxygen concentration on porphyrin biosynthesis in chicken erythrocyte preparation.- Biochem. J. 90:66, 1964

- 78- Falk, J.E.- Porphyrins and metalloporphyrins. Ed. K.M. Smith, Elsevier, Amsterdam, 1975
- 79- Felsher, B.F., Norris, M.E. y Shih, J.C.- Red cell uroporphyrinogen decarboxylase activity in porphyria cutanea tarda and in other forms of porphyria.- N. Engl. J. Med. 299: 1095, 1978
- 80- Fernandez, A.A., Henry, R.J., y Goldenberg, H.- Assay of urinary porphyrins.- Clin. Chem. 12:463, 1966
- 81- Finelli, V.N., Klauder, D.S. y Karaffa, M.A.- Interaction of zinc and lead on δ -aminolevulinate dehydratase.- Biochem. Biophys. Res. Common. 65:303, 1975
- 82- Fisher, H. y Orth, H.- Die chemie des pyrrols, 1:327, Akad. Verlagsgers, Leipzig, 1934
- 83- Fisher, H. y Stern, A.- Die chemie des pyrrols, vol II, part 2, Akad. Verlagsgers, Leipzig, 1940
- 84- Fisher, H. y Orth, H.- Die chemie des pyrrols, vol II, part 1, pag. 390, Akad. Verlagers, Leipzig, 1937
- 85- Fogstrup, J. y With, T.K.- Urinary total porphyrins by ion-exchange analysis: reference values for the normal range on remarks on preformed porphyrins in acute porphyria urine.- J. Clin. Pathol. 32:109, 1979
- 86- French, J.M., y Thonger, E.- Ether-soluble porphyrins in bile, meconium and urine: a new appraisal by microscale counter-current analysis.- Clin. Sci. 31:337, 1966
- 87- Frydman, R.B., Tomaro, M.L., Wanschelbaum, A., y Frydman, B.- citado por: The Porphyrins, Ed. Dolphin, Academic Press, N. Y., 1979 .- Febs Letters 26:203, 1972
- 88- Frydman, R.B. y Frydman, B.- Febs Letters 52:317, 1975, citado por: The Porphyrins, Ed. Dolphin, Academic Press, N.Y. 1979

- 89- Frydman, R.B., Tomaro, M.L., Frydman, B. y Wanschelbaum, A.
Febs Letters 51:206, 1975, citado por: The Porphyrins, Ed,
Dolphin, Academic Press, N.Y., 1979
- 90- Gajdos, A. y Gajdos-Török, M.- Porphyrines et porphyrines.
Biochimie et clinique, Ed. Masson et Cie, Paris, pág. 212-
216, 1969
- 91- García, R.C., San Martín de Viale, L.C., Tomio, J.M., y
Grinstein, M.- Porphyrin biosynthesis . X. Porphyrinogen
carboxyl-lyase from avian erythrocytes. Further properties
Biochim. Biophys. Acta 309:203, 1973
- 92- George, P.- Thermodynamic aspects of porphyrin synthesis
and biosynthesis.- Ann. N.Y. Acad. Sci. 206:84, 1973
- 93- Gibson, K.D., Neuberger, A., y Scott, J.J.- The purifica-
tion and properties of δ -aminolaevulinic acid dehydrase.-
Biochem. J. 61:618, 1955
- 94- Goldberg, A. y Rimington, C.- Fate of porphobilinogen in
the rat. Relation with the acute intermittent porphyria
in the man.- Lancet 267:172, 1954
- 95- Goldberg, A. y Watson, C.J.- Fate of porphobilinogen admi-
nistered enterally or parenterally in the rat.- Biochem.
J. 59:37, 1955
- 96- Granick, S.- Science 120:105, 1954, citado por: The Porphy-
rins, Ed. Dolphin, Acad. Press, N.Y., 1979
- 97- Granick, S. y Mauzerall, D.- Porphyrin biosynthesis in ery-
throcytes.II. Enzymes converting δ -aminolevulinic acid to
coproporphyrinogen.- J. Biol. Chem. 232:1119, 1958
- 98- Granick, S. y Urata, G.- Increase in activity of o-aminole-
vulinic acid synthetase in liver mitochondria induced by
feeding of 3,5-dicarbethoxy-1,4-dihydrocollidine.- J. Biol.
Chem. 238:821, 1963.

- 99- Granick, S. y Sassa, S.- α -aminolevulinic acid synthetase and the control of heme and chlorophyll synthesis. En: *Metabolic Pathways*, Ed. Vogel, N.Y., Academic Press, pág. 77, 1971
- 100-Granick, S.- The induction in vitro of the synthesis of α -aminolevulinic acid synthetase in chemical porphyria: a response to certain drugs, sex hormones and foreign chemical.- *J. Biol. Chem.* 241:1359, 1966
- 101-Gross, M. y Rabinowitz, M.- Control of globin synthesis in cell free preparations of reticulocytes by formation of a translational repressor that is inactivated by hemin.- *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 69:1565, 1972
- 102-Grosser, Y. y Eales, L.- Patterns of the porphyrin excretion in the hepatocutaneous porphyrias.- *S. Afr. Med. J.* 47:2162, 1973
- 103-Gurba, P.E., Sennett, R.E., y Kobes, R.O.- Studies on the mechanism of action of δ -aminolevulinate dehydratase from bovine and rat liver.- *Arch. Biochem. Biophys.* 150:130, 1972
- 104-Hasegawa, E., Smith, C., y Tephly, T.R.- Induction of hepatic mitochondria ferrochelatase by phenobarbital.- *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 40:517, 1970
- 105-Hayashi, N., Yoda, B., y Kikuchi, G.- Mechanism of AIA induced increase of ALA-synthetase in liver mitochondria. IV. Accumulation of the enzyme in the soluble fraction of rat liver.- *Arch. Biochem. Biophys.* 131:83, 1969
- 106-Hayashi, N., Yoda, B. y Kikuchi, G.- *J. Biochem (Tokio)* 67: 859, 1970, citado por: *The Porphyrins*, Ed. Dolphin, Academic Press, N.Y., 1979

- 107-Hayashi, N., Kurashima, Y. y Kikuchi, G.- Mechanism of allylisopropylacetamide-induced increase of δ -aminolevulinate synthetase in liver mitochondria.V. Mechanism of regulation by hemin of the level of δ -aminolevulinate synthetase in rat liver mitochondria.- Arch. Biochem. Biophys. 148: 10, 1972
- 108-Heilmeyer, L.- Die störungen der bluthäm synthese. Stuttgart, George thieme Verlag, 1964
- 109-Henderson, R.W., y Morton, T.C.- A thin layer chromatographic method for the rapid separation of porphyrin dimethyl esters.- J. Chromatog. 27:180, 1967
- 110-Herbert, F.K.- An analytical scheme for faecal porphyrins.- Clin. Chim. Acta 13:38, 1966
- 111-Holti, C., Rimington, C., Tate, B.C., y Thomas, G.- An investigation of porphyria cutanea tarda.- Quart. J. Med. 27:1, 1958
- 112-Shia, D.Y. y Page, M.- Coproporphyrin studies in children. I. Urinary coproporphyrin excretion in normal children.- Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 85:86, 1954
- 113-Hunt, T., Vanderhoff, G.A. y London, I.M.- Control of globin synthesis. The role of heme.- J. Mol. Biol. 66:471, 1972
- 114-Iodice, A.A., Richert, D.A. y Schulman, M.P.- Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 17:248, 1958, citado por: The Porphyrins, Ed. Dolphin, Academic Press, N.Y., 1979
- 115-Israels, L.G., Yamamoto, T. y Skanderberg, J.- Early appearing bilirubin: evidence for two components.- J. Clin. Invest. 44:31, 1975
- 116-Iupac-IUB: Commission on Biochemical Nomenclature.- Bioche-

- mistry 13:1555, 1974
- 117-Jackson, A.H. y Games, D.E.- The latter stages of porphyrin biosynthesis.- Ann. N.Y. Acad. Sci. 244:591, 1975
- 118-Jackson, A.H.- Modern spectroscopic and chromatographic techniques for the analysis of porphyrin on a microscale.- Semin. Hematol. 14 :193, 1977
- 119-Jackson, A.H., Lash, T.D. y Ryder, D.J.- Synthetic and biosynthetic studies of porphyrins, V. Evidence for an alternative pathway in the biosynthesis of haem.- Int. J. Biochem. 12:775, 1980
- 120-Jakoucic, S., Haddock, J., Getz, G.S.- Mitochondrial development in liver of foetal and newborn rats.- Biochem. J. 121:341, 1971
- 121-Jones, M.S. y Jones, O.T.G.- The structural organization of haem synthesis in rat liver mitochondria.- Biochem. J. 113:507, 1969
- 122-Jones, M.S. y Jones, O.T.G.- Permeability properties of mitochondrial membranes and the regulation of heme biosynthesis.- Biochem. Biophys. Res. Commun. 41:1072, 1970
- 123-Jones, K.G. y Sweeney, G.D.- Measurement of urine porphyrins and porphyrinogens.- Biochem. Med. 15:223, 1971
- 124-Jones, K.G. y Sweeney, G.D.- Quantitation of urinary porphyrins by use of second derivative spectroscopy.- Clin. Chem. 25:71, 1979
- 125-Jones, K. y Magnus, A.- The effect of environmental lighting on porphyrin hepatic metabolism in the rat.- Acta Biologica et Medica Germana 38:1295, 1979
- 126-Jordan, P.M. y Shemin, D.- δ -aminolevulinic acid synthetase, En: The Enzymes, Ed. Boyer, N.Y. Academic, pag 339, 1972

- 127-Kaplowith, N., Javitt, N. y Kappas, A.- Coproporphyrin-I and III excretion in bile and urine.- J. Clin. Invest. 51: 2895, 1979
- 128-Kench, J.E., Langley, F.A. y Wilkinson, J.F.- Biochemical and pathological studies of congenital porphyria.- Quart. J. Med. 22:285, 1953
- 129-Ketterer, B., Srai, K.S. y Christodoulides, L.- Haem-binding proteins of the rat liver cytosol.- Biochim. Biophys. Acta 428:683, 1976
- 130-Kondo, T., Kuchiba, K. y Shimizu, Y.- Metabolic fate of exogenous δ -aminoluvulinic acid in Dubin-Johnson syndrome.- J. Lab. Clin. Med. 94:421, 1979
- 131-Koskelo, P., Eisalo, A. y Toivonen, I.- Urinary excretion of porphyrin precursors and coproporphyrin in healthy females and oral contraceptives.- Br. Med. J. 1:652, 1966
- 132-Koskelo, P., Toivonen, I. y Adlercreutz, H.- Urinary coproporphyrin isomer distribution in the Dubin-Johnson syndrome.- Clin. Chem. 13:1006, 1967
- 133-Koskelo, P. y Toivonen, I.- Urinary excretion of coproporphyrin isomers I and III and aminolaevulinic acid in normal pregnancy and obstetric hepatosis.- Acta Obstet. Gynecol. Scand. 47:292, 1968
- 134-Koskelo, P., Toivonen, I. y Rintola, P.- The binding of C^{14} labelled porphyrins by plasma proteins.- Clin. Chim. Acta 29:559, 1970
- 135-Koskelo, P., Bergrahm, B. y Toivonen, I.- Observations on the binding of C^{14} labelled porphyrins by human plasma proteins.- S. Afr. J. Lab. Clin. Med. 17:167, 1971
- 136-Koskelo, P., Sunberg, L. y Hakansson, W.- Isolation and partial characterization of rat liver porphyrin binding pro-

- teins.- Ann. Clin. Res. 8, supl. 17:224, 1976
- 137-Koskelo, P. y Kekki, M.- Multicompartment analysis of C¹⁴ labelled coproporphyrin and uroporphyrin. Kinetics in human beings.- Ann. Clin. Res. 8, supl. 17:198, 1976
- 138-Koskelo, P. y Muller-Eberhard, U.- Interaction of porphyrins with proteins.- Semin. Hematol. 14:221, 1977
- 139-Koskelo, P. y Mustajoki, P.- Altered coproporphyrin isomer excretion in patients with Dubin-Johnson syndrome.- Int. J. Biochem. 12:975, 1980
- 140-Kushner, J.P., Steinmuller, D.P. y Lee, G.R.- The role of iron in the pathogenesis of porphyria cutanea tarda. II. Inhibition of uroporphyrinogen decarboxylase.- J. Clin. Invest. 56:661, 1975
- 141-Kushner, J.P., Barbuto, A.J. y Lee, G.R.- An inherited enzymatic defect in porphyria cutanea tarda: decreased uroporphyrinogen decarboxylase activity.- J. Clin. Invest. 58:1089, 1976
- 142-Labbé, R.F.- Biochim. Biophys. Acta 31:589, 1959, citado por: The Porphyrins, Ed. Dolphin, Academic Press N.Y. 1979
- 143-Labbé, R.F.- Clinical-biochemical interpretations of erythrocyte protoporphyrin. En: Porphyrins in Human Diseases, pág. 141, Ed. M. Doss, Karger, Basilea, 1976
- 144-Ladero, J.M., Enríquez de Salamanca, R., Cros, L.A., Peña M.L., y Arrojo, A.- Metabolismo de la bromosulfaleína y niveles hepáticos, fecales y urinarios de porfirinas en la porfiria cutánea tarda.- Gastroenterología y Hepatología 4:59, 1981
- 145-Lamberg, B.A., Koskelo, P. y Runenberg, L.- Acute porphyria in a hyperthyroid patient.- Acta Med. Scand. 185:415, 1969
- 146-Lamon, T., With, T.K. y Redeker, A.G.- The Hoesch test:

- beside screening for urinary porphobilinogen in patients with suspected porphyria.- Clin. Chem. 20:1430, 1974
- 147-Lane, S.E., Gidari, A.S. y Levere, R.D.- Glucocorticoid potentiation of δ -aminolevulinic acid synthetase in chick embryo liver cells. A permissive effect.- Biochem. Biophys. Res. Commun. 74: 57, 1977
- 148-Lascelles, J.- Synthesis of porphyrins by cell suspensions of tetrahymena vorax: effect of members of the vitamin B group.- Biochem. J. 66:65, 1957
- 149-Lascelles, J.- Tetrapyrrole biosynthesis and its regulation, Benjamin Inc, N.Y. 1964
- 150-Levere, R.D.- Porphyrin synthesis in hepatic cirrhosis: increase in δ -aminolevulinic acid synthetase.- Biochem. Med. 1:92, 1967
- 151-Levi, A.J., Gatmaitan, Z. y Arias, I.M.- Two hepatic cytoplasmatic protein fractions, Y and Z, and their possible role in the hepatic uptake of bilirubin, sulfobromophthalin, and other anions.- J. Clin. Invest. 48:2156, 1969
- 152-Litwack, G., Ketterer, B. y Arias, I.M.- Ligandin: a hepatic protein which binds steroids, bilirubin, carcinogens and a number of exogenous organic anions.- Nature 234:466, 1971
- 153-Loockwood, W.H. y Rimington, C.- Purification of an enzyme converting porphobilinogen to uroporphyrins.- Biochem. J. 67:8, 1957
- 154-Loockwood, W.H. y Davis, J.L.- Paper electrophoresis of urinary porphyrins.- Clin. Chim. Acta 7:301, 1962
- 155-Llambias, E.B.C. y Batlle, A.M.C.- Uroporphyrinogen III cosynthetase. Evidence for the existence of a polypyrrolic substrate in soybean callus tissue.- Febs Letters 6:295, 1970

- 156-Llambias, E.B.C. y Batlle, A.M.C.- Studies on porphobilinogen deaminase-uroporphyrinogen III cosynthetase system of cultured soyabean cells.- Biochem. J. 121:327, 1971
- 157-Martinez, C.A. y Mills, G.C.- Spectrofluorometric determination of porphyrins in urine.- Clin. Chem. 17:199, 1971
- 158-Marver, H.S., Collins, A. y Tschudy, D.P.- The permissive effect of hydrocortisone on the induction of δ -aminolævulate synthetase.- Biochem. J. 99:31-c, 1966
- 159-Marver, H.S., Tschudy, D.P., Pelroth, M.G. y Coccins, A.- Coordinate synthesis of heme and apoenzyme in the formation of tryptophane pyrrolase.- Science 154:501, 1966
- 160-Mas, V., Catalán, T., Olmos, A., Peña Payero, M.L., De Diego, A y Enríquez de Salamanca, R.- Patrón electroforético de la excreción urinaria de porfirinas en la porfiria cutánea tarda.- Med. Seg. Trab. 106:37, 1979
- 161-Mauzerall, D. y Granick, S.- Porphyrin biosynthesis in erythrocytes. III. Uroporphyrinogen and its decarboxylase.- J. Biol. Chem. 232:1141, 1958
- 162-Mauzerall, D. y Granick, S.- The occurrence and determination of δ -aminolevulinic acid and porphobilinogen in urine.- J. Biol. Chem. 219:435, 1956
- 163-McKay, R., Druyan, R., Getz, G.S. y Rabinowitz, M.- Biochem. J. 114:455, 1969, citado por: The Porphyrins, Ed. Dolphin, Academic Press, N.Y., 1979
- 164-Meuwissen, J.A.T.P., Ketterer, B., y Mertens, B.B.E.- Haematin and bilirubin binding to ligandin.- Digestion 6:293, 1972
- 165-Meyer, U.A. y Schmid, R.- The Porphyrins. En: The Metabolic Basis of Inherited Disease, Ed. J.B. Stanbury ; Wyngaarden, J.B. y Fredrickson, D.S., N.Y., 1978

- 166-Moore, M.R., Thompson, G.G., Mayne, N.P. y McGadey, J.-
Cyclical oscillations in the activity of δ -aminolevulinate
synthetase and porphyrin synthesis in the harderian gland
during the oestrous cycle of the golden hamster.- *Biochem.*
Soc. Trans. 5:1475, 1977
- 167-Moore, M.R.- The biochemistry of the porphyrins.- *Clinics*
in Haematology 9:227, 1980
- 169-Mustajoki, P.- Variegate Porphyrria.- *Quart. J. Med. N.S.*
49:191, 1980
- 168-Mustajoki, P. y Koskelo, P.- Hereditary hepatic porphyrias
in Finland.- *Acta Med. Scand.* 200:171, 1976
- 170-Nandy, D.L. y Shemin, D.- δ -aminolevulinic acid dehydrata-
se of *Rhodopseudomonas spheroides*. III. Mechanism of porpha-
bilinogen synthesis.- *J. Biol. Chem.* 243:1236, 1968
- 171-O'Flaherty, J., Hammond, P.B., Lerner, S.I., Hanenson, I.B.
y Roda, S.M.B.- The renal handling of δ -aminolevulinic acid
in the rat and in the human.- *Toxicol. Appl. Pharmacol.*
55:423, 1980
- 172-Ohashi, A. y Kikuchi, G.- Mechanism of allylisopropylaceta-
mide induced increase of δ -aminolevulinate synthetase in li-
ver mitochondria. IV. Multiple molecular forms of δ -aminole-
vulinate synthetase in the cytosol and mitochondria of indu-
ced cock liver.- *Arch. Biochem. Biophys.* 153:34, 1972
- 173-Patton, G.M. y Beattie, D.S.- Studies on hepatic δ -aminole-
vulinic acid synthetase.- *J. Biol. Chem.* 248:4467, 1973
- 174-Peña Payero, M.L.- Excreción de porfirinas en individuos
normales.- Tesina de Licenciatura, Facultad de Medicina,
Universidad Complutense, Madrid, 1978
- 175- Peña Payero, M.L., Olmos Andrés, A., Martín Alonso, A.,
Romero García-Alix, F. y Enríquez de Salamanca, R.- Estudio

- comparativo de la porfirinuria total mediante el empleo de dos metódicas diferentes.- Arch. Fac. Med. Madrid 34:195, 1978
- 176-Perrot, H., Boucherat, M. y Thivolet, J.- Faecal porphyrin excretion in various types of porphyria. Thin layer chromatographic study.- Arch. Dermatol. Res. 263:67, 1978
- 177-Piñol Aguadé, J., Herrero, C., Almeida, J., Smith, S.G. y Belcher, R.V.- Thin layer chromatography and counter-current analysis in porphyrias.- Br. J. Dermatol. 93:277, 1975
- 178-Porra, R.J. y Falk, J.E.- The enzymatic conversion of coproporphyrinogen III into protoporphyrin IX.- Biochem. J. 90: 69, 1974
- 179-Porra, R.J. e Irving, E.- The nature of the inhibition of the aminolevulinic acid synthetase by hemin.- Arch. Biochem. Biophys. 148:37, 1972
- 180-Poulson, R. y Polglase, W.J.- Febs Letters 40:258, 1974, citado por: The Porphyrins, Ed. Dolphin, Academic Press, N.Y. 1979
- 181-Poulson, R., y Polglase, W.J.- The enzymic conversion of protoporphyrinogen IX to protoporphyrin IX. Protoporphyrinogen oxidase activity in mitochondria extracts of saccharomyces cerevisiae.- J. Biol. Chem. 250:1269, 1975
- 182-Poulson, R.- The enzymic conversion of protoporphyrinogen IX to protoporphyrin IX in mammalian mitochondria.- J. Biol. Chem. 251:3730, 1976
- 183-Powel, K.A., Cox, R., McConville, M., y Charles, H.P.- Mutations affecting porphyrin biosynthesis in scherichia coli.- Enzyme 16:65, 1973
- 184-Rico, R., Olmos, A., Montes, M.J., Molina, C., Peña Payero,

- M.L. y Enríquez de Salamanca, R.- Isocoproporfirinas urinarias en la porfiria cutánea tarda.- Med. Seg. Trab. 105: 28, 1979
- 185-Rimington, C. y Krol, S.- Nature 175:630, 1955, citado por: The Porphyrins, Ed. Dolphin, Academic Press, 1979
- 186-Rimington, C., Loockwood, W.H. y Belcher, R.V.- The excretion of porphyrin peptide conjugates in porphyria variegata.- Clin. Sci. 35:211, 1968
- 187-Rimington, C.- Quantitative determination of porphobilinogen and porphyrins in urine and porphyrins in faeces and erythrocytes.- Association of Clinical Pathologists, Broad-sheet nº 70, 1971
- 188-Rimington, C.- The isolation of a monoacrylic tripropionic porphyrin from meconium and its bearing on the conversion of coproporphyrin to protoporphyrin.- S. Afr. Med. J. 17: 187, 1971
- 189-Rimington, C. y With, T.K.- Sub-uroporphyrins and their occurrence.- Enzyme 17:17, 1974
- 190-Reese, A.J.M. y Rimington, C.- Biliary and urinary excretion of porphyrins in the rat studied by intravital fluorescence microscopy.- Br. J. Path. 45:30, 1964
- 191-Romeo, G. y Levin, E.Y.- Uroporphyrinogen decarboxylase from mouse spleen.- Biochim. Biophys. Acta 230:330, 1971
- 192-Russell, R.L. y Coleman, D.L.- Genetic control of hepatic δ -aminolevulinate dehydratase in mice.- Genetics 48:1033, 1963
- 193-Sanchis Cervera, J., Llavador Sanchis, J., Carmena Rodríguez, R., y Aliaga, Bonilla, A.- Tasas normales de porfirinas. Método simplificado de determinación cuantitativa y resultados en 50 sujetos normales.- Med. Esp. 75:234, 1974

- 194-Sano, S. y Granick, S.- Mitochondrial coproporphyrinogen oxidase and protoporphyrin formation.- J. Biol. Chem. 236: 1173, 1961
- 195-Sano, S. y Granick, S.- Mitochondrial coproporphyrinogen oxidase and protoporphyrin formation.- J. Biol. Chem. 236:1173, 1961
- 196-Sano, S. y Rimington, C.- Excretion of various porphyrins and their corresponding porphyrinogens by rabbits after intravenous injection.- Biochem. J. 86:203, 1963
- 197-Sassa, S. y Granick, S.- Induction of o-aminolevulinic acid synthetase in chick embryo liver cell in culture.- Proc. Natl. Acad. Sci. USA 67:517, 1970
- 198-Sassa, S., Granick, S., Kappas, A.- Effect of lead and genetic factors on hem biosynthesis in the human red cell.- Ann. N.Y. Acad. Sci. 244:419, 1975
- 199-Sassa, S.- Sequential induction of hem pathway enzymes during erythroid differentiation of mouse friend leukemia virus infected cells.- J. Exp. Med. 143:305, 1976
- 200-Schmid, R. y Shemin, D.- J. Am. Chem. Soc. 77:506, 1955, citado por: The Porphyrins, Ed. Dolphin, Academic Press N.Y. 1979
- 201-Schimke, R.T.- Control of enzyme levels in mammalian tissues.- Adv. Enzymol. 37:135, 1973
- 202-Scholnick, P.L., Hammarker, E., y Marver, H.S.- Soluble δ -aminolevulinic acid synthetase of rat liver. II. Studies related to the mechanism of enzyme action and heme inhibition.- J. Biol. Chem. 247:4132, 1972
- 203-Schulman, M.P. y Richert, D.A.- Heme synthesis in vitamin B₆ and pantothenic acid deficiencies.- J. Biol. Chem. 226: 181, 1957

- 204-Schwartz, S., Zieve, L. y Watson, C.J.- An improved method for the determination of urinary coproporphyrins and evaluation of factors influencing the analysis.- J. Lab. Clin. Med. 37:843, 1951
- 205-Schwartz, S., Edmonson, P., Freyholtz, H., Nelson, W., Griglia, S., Bazin, H. y Halberg, F.- Circadian rhythmic urinary porphyrin excretion by adult Low-M/WST and Sprague-Dawley rats.- Chronobiologia 88:32, 1975
- 206-Schwartz, S., Berg, M.H., Bossenmaier, I., y Disnmore, H.- En: Methods of Biochemical Analysis, Ed. Glick, Interscience Publishers, N.Y., vol. VIII, pág. 221, 1960
- 207-Schwartz, S., Stephenson, B. y Sarkar, D.- Chromatography on Florisil in the quantitative estimation of urinary and other porphyrins.- Clin. Chem. 22:1057, 1976
- 208-Schwartz, S., Edmonson, P., Stephenson, B., Sarkar, D. y Freyholtz, H.- Direct spectrofluorophotometric determination of porphyrins in diluted urine.- Ann. Clin. Res. 8, supl. 17:156, 1976
- 209-Sears, W.G., Darocha, T., y Eales, L.- Thin layer chromatographic behaviour of the coproporphyrin isomers in relation to porphyrin P₁.- Enzyme 17:69, 1964
- 210-Seery, V.L., Hathaway, G. y Muller-Eberhard, U.- Hemopexin of human and rabbit: molecular weight and extinction coefficient.- Arch. Biochem. Biophys. 150:269, 1972
- 211-Seery, V.L. y Muller-Eberhard, U.- Binding of porphyrins to rabbit hemopexin and albumin.- J. Biol. Chem. 248:3796, 1973
- 212-Seubert, A., Seubert, S., Nattbohm, L. e Ippen, H.- Epidemiological study on the relationship between lead exposure and porphyrin metabolism.- Int. J. Biochem. 12:891, 1980

- 213-Shanley, B.C., Zail, S.A., y Joubert, S.M.- Effect of ethanol on liver δ -aminolaevulinate synthetase in rats.- *Lancet* 1:70, 1968
- 214-Shemin, D.- The biosynthesis of porphyrins.- *Ergeb Physiol.* 49:299, 1957, citado por Gidari, A.S. y Levere, R.D.- Enzymatic formation and cellular regulation of heme synthesis.- *Semin. Hematol.* 14:145, 1977
- 215-Shemin, D.- *Proc. R. Soc. London, SER, B.* 273:109, 1976 citado por: *The Porphyrins*, Ed. Dolphin, Academic Press, N.Y. 1979
- 216-Shimizu, Y., Ida, S., Naruto, H., y Urata, G.- Excretion of porphyrins in urine and bile after the administration of δ -aminolevulinic acid.- *J. Lab. Clin. Med.* 92:795, 1978
- 217-Sinclair, P.R. y Granick, S.- Heme control on the synthesis of δ -aminolevulinic acid synthetase in culture chick embryo liver cells.- *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 244:509, 1975
- 218-Smith, S.G., Belcher, R.V. y Mahler, R.F.- Some ether-soluble porphyrins extracted from various normal and variegate porphyric tissues.- *S. Afr. Med. J.* 17:150, 1971
- 219-Smith, S.G.- The use of thin layer chromatography in the separation of free porphyrins and porphyrin methyl esters.- *Br. J. Dermatol.* 93:291, 1975
- 220-Smith, K.M.- *Porphyrins and Metalloporphyrins*, Ed. Elsevier, Amsterdam, págs. 3-58, 1975
- 221-Smith, S.G.- Porphyrins found in urine of patients with symptomatic porphyria.- *Biochem. Soc. Trans.* 5:1472, 1977
- 222-Smith, S.G., Rao, K.R.N. y Jackson, A.H.- The porphyrins of normal human urine with comparison of the excretion pattern in porphyria cutanea tarda.- *Int. J. Biochem.* 12:1081, 1980
- 223-Sobel, C., Cano, C. y Thiers, R.E.- Separation and quantita-

- tion of coproporphyrinogen and uroporphyrinogen in urine.- Clin. Chem. 20:1397, 1974
- 224-Stathers, G.M., Aronsen, K.F. y Haeger-Aronsen, B.- Inhibition of hepatic clearance of bromosulphthalein by uro- and protoporphyrin.- Scand. J. Gastroent. 4:233, 1969
- 225-Strand, L.J., Manning, J. y Marver, H.S.- The induction of δ -aminolevulinic acid synthetase in cultured liver cells. The effects of end product and inhibitors of heme synthesis.- J. Biol. Chem. 247:2820, 1972
- 226-Sunderman, F.W. y Boerner, F.- Normal values in clinical medicine, section XV, "Endocrines", pág. 535-572, Ed. Saunders Co, Filadelfia, 1950
- 227-Sutherland, D.A. y Watson, C.J.- Studies of coproporphyrin. VI. The effect of alcohol on the per diem excretion and isomer distribution of the urinary coproporphyrins.- J. Lab. Clin. Med. 37:29, 1951
- 228-Sweeney, G.D.- The porphyrias in South Africa. A study of the excreted porphyrins. Ph. Thesis. University of Cape Town, 1963
- 229-Taddeini, L. y Watson, C.J.- The clinical porphyrias.- Seminars in Hematology 5:335, 1968
- 230-Tait, G.H.- Biochem. J. 128:1159, 1972, citado por: The Porphyrins, Ed. Dolphin, Academic Press, N.Y., 1979
- 231-Tien, W. y White, D.C.- Linear sequential arrangement of genes for the biosynthetic pathway of protoheme in *Staphylococcus aureus*.- Proc. Natl. Acad. Sci. USA 61:1392, 1968.
- 232-Tiepermann, R.V. y Doss, M.- Quality control studies on urinary aminolevulinic acid, porphobilinogen and porphyrin analysis.- En: Chemical Porphyria in Man, pág. 215-220,

- Ed. Strik y Koeman, Elsevier, Amsterdam, 1979
- 233-Tipping, E., Ketterer, B. y Koskelo, P.- The binding of porphyrins by ligandin.- *Biochem. J.* 169:509, 1978
- 234-Tiribelli, C., Lunazzi, G., Luciani, M., Panfili, E., Tazzin, B., Lint, G., Sandri, G.W. y Sottocasa, G.- Isolation of a sulfobromophthalein binding protein from hepatocyte plasma membrane.- *Biochim. Biophys. Acta* 532:105, 1978
- 235-Vannotti, A.- Porphyrins. Their biological and chemical importance, Londres 1954, citado por Bourke y cols(16).
- 236-Waters, L.R. y Roberts, R.J.- Effect of several endogenous substances including porphyrins, hematin, and carbon monoxide on hepatic clearance of sulfobromophthalein.- *Toxicology* 2:223, 1974
- 237-Watson, C.J., Pimenta de Mello, A., Schwartz, S., Hawkinson, V.E. y Bossenmaier, I.- Porphyrin chromogens or precursors in urine, blood, bile and faeces.- *J. Lab. Clin. Med.* 37: 831, 1951
- 238-Watson, C.J., Berg, M.H., Hawkinson, V.E. y Bossenmaier, I.- Studies on the uroporphyrins.- *Clin. Chem.* 6:71, 1960
- 239- Watson, C.J., Linch, F., Bossemaier, I. y Cardinal, R.- Griseofulvin and porphyrin metabolism. Special reference to normal fecal porphyrin excretion.- *Arch. Derm.* 98:451, 1968
- 240-Waxman, A.D., Collins, A. y Tschudy, D.P.- Oscillations of hepatic δ -aminolevulinic acid synthetase produced in vivo by heme.- *Biophys. Res. Commun.* 24:675, 1966
- 241-Westall, R.G.- *Nature* 170:614, 1952, citado por: The Porphyrins, Ed. Dolphin, Academic Press, N.Y., 1979
- 242-Whiting, M.J. y Granick, S.- δ -aminolevulinic acid synthetase from chick embryo liver mitochondria. II. Immunochemical correlation between synthesis and activity in induction and repression.- *J. Biol. Chem.* 251:1347, 1976

- 243-Wiegand, S.E., Copeman, P.W., Perry, H.O.- Metabolic alkalization in porphyria cutanea tarda.- Arch. Derm. 100: 544, 1969
- 244-Wilson, E.L., Burger, P.E. y Dowdle, E.B.- Beef liver ~~-6-~~ aminolevulinic acid dehydratase purification and properties Eur. J. Biochem. 29:563, 1972
- 245-Wilson, J.M.P., Van de Berg, J.W.O., Edixhoven-Bosdijk, A. y Van Gastel-Quist, L.H.M.- Preparation of porphyrin methyl esters for high pressure liquid chromatography.- Clin. Chim. Acta 89:165, 1978
- 246-With, T.K.- Paper electrophoresis of porphyrins.- Scand. J. Lab. Invest. 8:113, 1951
- 247-With, T.K.- Thin layer chromatography of free and esterified porphyrins on talc.- J. Chromatog. 42:389, 1969
- 248-With, T.K.- Column chromatography of free porphyrin on talc.- S. Afr. Med. J. 17:227, 1971
- 249- With, T.K.- Clinical use of porphyrin ester chromatography of urine and faeces.- Dan. Med. Bull. 22:74, 1975
- 250-With, R.K.- Quantitative studies on incomplete porphyrin esterification. En: Porphyrins in Human Diseases, - Report of the Discussions, pág. 275, Ed. M. Doss y P. Nawrocki, 1976
- 251-With, T.K.- A simplified system of clinical porphyrin analysis of urine and faeces based on thin layer chromatography. En: Porphyrins in Human Disease, pág. 492-499, Ed. M. Doss, Karger, Basilea, 1976
- 252-With, T.K.- Quantitative studies on absorption of porphyrins onto talc.- En: Porphyrins in Human Diseases, - Report of the Discussions, pág. 272-274, Ed. M. Doss y P. Nawrocki, 1976
- 253-With, T.K.- Clinical porphyrin analysis: indications and

- interpretations.- Scand. J. Clin. Lab. Invest. 38:501, 1978
- 254-With, T.K y Pedersen, J.S.- Ion exchange analysis of porphyrins in urine.- Scand. J. Clin. Lab. Invest. 38:279, 1978
- 255-Wolkand, W. y Hardeland, R.- Diurnal rythm in rat liver-5-aminolevulinate synthetase activity.- J. Interdiscipl. Cycle Res. 11:19, 1980
- 256-Woods, J.S.- Studies on the regulation of δ -aminolevulinic acid synthetase during fetal hepatic development.- Mol. Pharmacol. 10:389, 1974
- 257-Woods, J.S.- Studies on the rate-limiting role of δ -aminolevulinic acid synthetase in heme biosynthesis in fetal rat liver.- En: Porphyrins in Human Disease, pág. 86-97, Ed. M. Doss, Karger, Basilea, 1976
- 258-Yoda, B. e Israels, L.G.- Transfer of heme from mitochondria in rat liver cells.- Can. J. Biochem. 50:633, 1972
- 259-Yoda, B., Schacter, B.A. e Israels, L.G.- Induction of δ -aminolevulinic acid synthetase in the kidney of chicks treated with porphyrinogenic drugs.- Biochim. Biophys. Acta 372:478, 1974
- 260-Zieve, L., Hill, E., Schwartz, S. y Watson, C.J.- Normal limits of urinary coproporphyrin excretion determined by an improved method.- J. Lab. Clin. Med. 41:663, 1953

ADDENDA:

- 103 (bis).- Haeger, B.: Urinary 6-aminolaevulinic acid and porphobilinogen in different types of porphyria. Lancet. 2: 606, 1958
- 166 (bis).- Moore, M.R., Thompson, G.G. y Goldberg, A.- Amounts of faecal porphyrin-peptide conjugates in the porphyrias. Clin. Sci. 43:299,1972

